



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PRÉ-TRATAMENTOS DE ESMALTE EM LESÕES DE CÁRIE NÃO CAVITADAS

Trabalho submetido por
Laura Carretero Barrado
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2017



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PRÉ-TRATAMENTOS DE ESMALTE EM LESÕES DE CÁRIE NÃO CAVITADAS

Trabalho submetido por

Laura Carretero Barrado

para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Prof. Doutora Ana Cristina Manso

e coorientado por

Prof. Doutora Carla Ascenso

setembro de 2017

Aos meus exemplos de vida, que sempre deram
tudo por mim: *Papá y mamá, ¡gracias por hacer este
sueño realidad!*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer à minha orientadora, Prof. Doutora Ana Cristina Manso, pela orientação dada ao longo deste trabalho, pelo apoio, entusiasmo, motivação, e rigor transmitidos.

À minha coorientadora, Prof. Doutora Carla Ascenso, pela ajuda preciosa, empatia e também pelo rigor e perfeccionismo.

A ambas, muito obrigada pelos elogios recebidos pelo uso da língua portuguesa!

Ao professor Mário Polido, por permitir a realização deste estudo no laboratório de biomateriais.

À Eng^a Isabel Nogueira, do IST-UL pela sua disponibilidade na observação das amostras no microscópio eletrónico de varrimento.

À casa comercial DMG pela cedência de material para a investigação científica e pelo interesse mostrado neste estudo.

Aos meus colegas de laboratório e à Sandra, que amenizaram as horas passadas no laboratório de biomateriais.

À Direção Clínica, pelo ensino de qualidade que fornece aos alunos e pelas constantes inovações realizadas ao longo destes últimos anos.

À Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz, por me ter acolhido da melhor maneira possível e por ter sido a minha casa portuguesa. A todos os que contribuíram para que o espírito académico, ao longo das gerações, fizesse da Egas Moniz uma faculdade única carregada de sentimento e simbolismo, obrigada.

Aos meus colegas e, principalmente, aos amigos que levo desta faculdade, que cresceram a meu lado, tanto a nível pessoal como profissional. Sem vocês, não teria sido o mesmo! Às minhas amigas da infância, que apesar da distância estiveram sempre presentes.

À Madalena, pois desde o primeiro dia foi um pilar essencial durante o meu percurso na faculdade.

Ao Pedro por toda a sua bondade, partilha, apoio e motivação.

Por fim, à minha família que é a melhor do mundo. Obrigada a todos por acreditarem em mim, pelo apoio e carinho constante. Um agradecimento especial ao tio Paco por todos os conselhos, ensinamentos científicos e pela disponibilidade que sempre demonstrou. Ao meu irmão e aos meus pais, o maior obrigado do Universo!

RESUMO

Objetivos: Quantificar e comparar a microdureza do esmalte e qualificar a sua superfície quando se aplica um pré-tratamento com Caseína Fosfopeptídica – Fosfato de Cálcio Amorfo (CPP-ACP), seguido da aplicação de resina infiltrante de esmalte, ICON®.

Materiais e métodos: 48 espécimes de esmalte humano dividiram-se em 4 grupos. Simularam-se lesões de cárie artificiais através de solução tampão de ácido láctico pH 5.0, durante 6 dias. Grupo A (n=12): aplicou-se, uma vez por dia, durante 4 semanas, CPP-ACP, intercalando esta aplicação com imersão das amostras em saliva artificial a 37°C. Grupo B (n=12): aplicou-se, como pré-tratamento, uma vez por dia, durante 4 semanas, CPP-ACP, sendo esta aplicação intercalada com imersão das amostras em saliva artificial. Seguidamente foi aplicada resina infiltrante, ICON®. Grupo C (n=12): as amostras mantiveram-se em saliva artificial, durante 4 semanas e aplicou-se resina infiltrante, ICON®. Grupo D (n=12): as amostras mantiveram-se imersas em saliva artificial, durante 4 semanas. A superfície de esmalte foi avaliada pelo teste de microdureza de Vickers e por microscopia eletrónica de varrimento. Na análise estatística usaram-se os testes ANOVA a um fator (com um intervalo de confiança de 95%) e os testes de Bonferroni e de contraste para a comparação entre pares de grupos.

Resultados: Não foram demonstradas diferenças significativas ($p > 0.05$) entre as médias de microdureza dos grupos A ($292,80 \pm 25,55$ HV) e B ($273,18 \pm 19,91$ HV). No entanto a média do grupo C ($240,24 \pm 20,46$ HV) difere estatisticamente da do grupo B ($p < 0,05$). A comparação entre a média de microdureza dos grupos C e D ($212,26 \pm 28,42$ HV) foi inconclusiva. Ao MEV, observamos maior organização e homogeneidade no grupo A, seguida de B e C, respetivamente. No grupo D verificou-se heterogeneidade na orientação dos prismas de esmalte.

Conclusões: Os grupos A e B, tratados com CPP-ACP, demonstraram maior dureza e homogeneidade de superfície, sugerindo remineralização do esmalte.

Palavras-chave: Resina infiltrante, fosfato de cálcio, remineralização, *white spot*.

ABSTRACT

Objectives: To quantify and to compare the enamel surface micro hardness and qualify the enamel surface when a pre-treatment is applied with Casein Phosphopeptide – Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP), followed by an application of an enamel infiltrant resin, ICON®.

Materials and Methods: 48 specimens were randomly divided into 4 different groups. All specimens of these 4 groups were subjected to a lactic acid buffer solution at pH 5, at 37°C, for artificial induction of white spot lesions. Group A (n=12): CPP-ACP was applied once a day, for 4 weeks. These specimens were submerged in artificial saliva, at 37°C. Group B (n=12): CPP-ACP was applied once a day, as a pre-treatment, for four weeks. These specimens were submerged in artificial saliva then, a single ICON® application was performed. Group C: Specimens were submerged in artificial saliva for 4 weeks. A single ICON® application was performed. Group D: Specimens were submerged in artificial saliva, for 4 weeks. The enamel surface was evaluated by the Vickers micro hardness test and Scanning Electron Microscopy. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA test (with a 95% confidence interval) and Bonferroni and contrast tests for pair comparisons.

Results: There were no significant differences ($p>0,05$) between the mean Vickers microhardness value of groups A ($292,80 \pm 25,55$ HV) and B ($273,18 \pm 19,91$ HV). However, there were significant differences between group B and C ($240,24 \pm 20,46$ HV). The results of multiple comparison test for group C and D ($212,26 \pm 28,42$ HV) were inconclusive. The greater organization and homogeneity was observed by SEM in group A, followed by group B and C, respectively. Heterogeneity in the orientation of enamel prisms was verified in group D.

Conclusion: Group A and B, where CPP-ACP was added, showed a greater increase of surface hardness and homogeneity.

Keywords: Infiltrant resin, calcium phosphate, remineralization; white spot.

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. ESMALTE HUMANO	11
1.1.1. Constituição e propriedades químicas.....	11
1.1.2. Estrutura	12
1.1.3. Propriedades mecânicas	12
1.2. CÁRIE DENTÁRIA.....	13
1.2.1. Definição	13
1.2.2. Aspectos bioquímicos e histológicos	14
1.2.3. Manifestações clínicas e classificação	15
1.2.4. Diagnóstico e índices de classificação.....	17
1.3. TRATAMENTO DE LESÕES DE ESMALTE NÃO CAVITADAS.....	20
1.3.1. Remineralização das lesões de cárie	20
1.3.2. Resina Infiltrante	24
1.4. PERTINÊNCIA DO ESTUDO.....	27
1.5. OBJETIVOS	27
1.6. HIPÓTESE NULA.....	27
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
2.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	29
2.2. LOCAL DO ESTUDO	29
2.3. DESENHO DO ESTUDO.....	29
2.4. SELEÇÃO DA AMOSTRA	30
2.5. PREPARAÇÃO E SECÇÃO DOS DENTES	30
2.6. POLIMENTO DAS AMOSTRAS.....	32
2.7. ALEATORIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	32
2.8. INDUÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO SIMULANDO LESÕES DE WHITE SPOT	34
2.9. SALIVA ARTIFICIAL	34
2.10. REMINERALIZAÇÃO DAS LESÕES DE ESMALTE NÃO CAVITADAS	35
2.11. APLICAÇÃO DE RESINA INFILTRANTE, ICON®.....	35
2.12. TESTE MICRODUREZA DE VICKERS	38
2.13. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (MEV)	39
2.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
3. RESULTADOS	41

3.1. TESTE DE MICRODUREZA DE VICKERS	41
3.2. MICROSCOPÍA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (MEV)	46
4. DISCUSSÃO	59
4.1. TESTE DE MICRODUREZA DE VICKERS	59
4.2. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (MEV)	61
4.3. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS	63
5. CONCLUSÕES	65
6. BIBLIOGRAFIA	67
ANEXO	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Micrótopo de tecidos duros Accutom 50 (Struers).	30
Figura 2. Esquematização do protocolo laboratorial de secção dos dentes.	31
Figura 3. Polimento das amostras em LaboPol- 4® (WS Struers 18-B, Dinamarca).	32
Figura 4. Esquema representativo do protocolo laboratorial.	34
Figura 5. Pasta de CPP-ACP (GC Tooth Mousse, Recaldent™).	35
Figura 6. Kit de resina infiltrante ICON® para superfícies vestibulares.	36
Figura 7. Kit de resina infiltrante ICON®: Icon-Etch, Icon-Dry e Icon-Infiltrant.	36
Figura 8. Esquematização do protocolo laboratorial de aplicação da resina infiltrante ICON®. A) Condicionamento ácido com Icon-Etch durante 2 minutos; B) Aspiração, lavagem e secagem; C) Aplicação de Icon-Dry durante 30 segundos; D) Secagem com ar; E) Infiltração da lesão com Icon-infiltrant durante 3 minutos; F) Fotopolimerização durante 40 segundos após remoção de excesso com algodão . G) Infiltração da lesão com Icon-Infiltrant durante 1 minuto; H) Fotopolimerização durante 40 segundos após remoção de excesso com algodão.	37
Figura 9. Máquina HSV-30T utilizada para medir a microdureza de Vickers.	38
Figura 10. Exemplo de medição de microdureza de Vickers de um espécime.	38
Figura 11. Exemplo de indentação num espécime.	38
Figura 12. Microscópio eletrónico de varrimento JEOL JSM-700001F.	39
Figura 13. 2 espécimes de cada grupo cobertas por liga ouro/paládio para MEV.	39
Figura 14. Diagrama de caixas das medidas descritivas dos diferentes grupos.	42
Figura 15. Representação gráfica da média de cada grupo obtida a partir do teste de ANOVA a um fator.	44
Figura 16. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250, após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observam-se fraturas de tensão por desidratação.	46
Figura 17. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000, após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se oclusão interprismática compatível com a remineralização.	47
Figura 18. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se uma superfície homogênea compatível com uma superfície remineralizada.	47

Figura 19. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se uma superfície homogénea e zonas com depósitos de cálcio e fosfato procedentes do CPP-ACP.....	48
Figura 20. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se uma superfície homogénea e organizada, cujos prismas de esmalte encontram-se ocluídos pelos depósitos de CPP-ACP.....	48
Figura 21. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®.	49
Figura 22. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e uma posterior aplicação de ICON®. Os primas de esmalte encontram-se menos ocluídos que na imagem correspondente do Grupo A.....	49
Figura 23. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®. A superfície apresenta um aspeto menos homogéneo, conseguem-se observar depósitos de CPP-ACP-	50
Figura 24. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®. A remineralização não é homogénea. Observam-se algumas lacunas e depósitos de CPP-ACP.....	50
Figura 25. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®. A superfície apresenta um aspeto menos homogéneo, conseguem-se observar depósitos de cálcio e fosfato procedentes do CPP-ACP.	51
Figura 26. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Observam-se algumas fraturas de esmalte por desidratação.	51
Figura 27. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000 após indução de lesão artificial de white spot e uma posterior aplicação de ICON®. Observa-se perfeitamente a estrutura em favo de mel característica do esmalte maturo.....	52

Figura 28. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Imagem de aspeto mais heterogéneo. Observam-se pequenas zonas de remineralização dispersas e oclusão interprismática.....	52
Figura 29. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Imagem com aspeto heterogéneo. Observam-se prismas de esmalte mais definidos.	53
Figura 30. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Observa-se oclusão interprismática embora a superfície apresente um aspeto mais heterogéneo. Os prismas de esmalte estão mais definidos nesta imagem do que nas imagens correspondentes aos grupos anteriores. Isto é devido a uma menor remineralização.	53
Figura 31. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial.	54
Figura 32. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. Observam-se alguns depósitos minerais superficiais compatíveis com zonas remineralizadas.	54
Figura 33. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. Observa-se uma superfície desorganizada e heterogénea. Predomina a desmineralização, mas também conseguimos observar zonas remineralizadas.	55
Figura 34. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. Observa-se uma superfície desorganizada e heterogénea, com cristais de HA dispostos em diferentes orientações. Observam-se lacunas compatíveis com zonas desmineralizadas. Apreciam-se também zonas superficiais remineralizadas, devido à ação da saliva.	55
Figura 35. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. É evidente a desorganização da superfície de esmalte. Os prismas de HA e a substância interprismática apresentam diferentes orientações.	56

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Critérios associados ao estado da superfície dentária baseados no ICDAS II.	19
Tabela 2. Critérios associados à presença ou não de cárie e ao seu estado, baseados no ICDAS II	20
Tabela 3. Medidas descritivas dos diferentes grupos.	41
Tabela 4. Resultados do teste de normalidade Shapiro-Wilk (output da análise estatística com programa SPSS).....	42
Tabela 5. Resultados do teste de homogeneidade de variâncias de Levene (output da análise estatística com programa SPSS).....	43
Tabela 6. Resultados do teste paramétrico ANOVA a um fator. (output da análise estatística com programa SPSS).....	43
Tabela 7. Resultados do teste de comparação múltipla (post-hoc): Teste de Bonferroni.	44
Tabela 8. Resultados do teste de contraste.	45
Tabela 9. Esquema das imagens obtidas por MEV nas diferentes ampliações observadas.	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADA – American Dental Association
CCS – Sistema de Classificação de lesões de Cárie
DMG – Dental Milestones Guaranteed
ECM – Método de Condutibilidade Elétrica
FOTI – Transiluminação com Fibra Óptica
CPP-ACP – Caseína Fosfopeptídica– Fosfato de Cálcio Amorfo
CPP-ACFP – Caseína Fosfopeptídica fluoretada– Fosfato de Cálcio Amorfo
FA – Fluorapatite
Fig. – Figura
g. – Grama
° – Graus
°C – Graus Centígrados
HV – Hardness Vickers
HK – Hardness Knoop
HA – Hidroxiapatite
H1 –Hipótese alternativa
H0 – Hipótese nula
ICDAS II – International Caries Detection and Assessment System II
ISO – International organization Standardization
µm – Micrómetro
MEV – Microscópio Eletrónico de Varrimento
mL – Mililitro
mm – Milímetro
mM –Milimolar
ū – Média
nm – Nanómetro
N – Newton
OMS – Organização Mundial de Saúde
Ppm – Partes por milhão
% – Percentagem
pH – Potencial Hidrogénico
Rpm – Rotações por minuto

SEM – Scanning Electron Microscopy

SPSS – Statistical Package for Social Sciences

TEGDMA – Trietilenglicol dimetacrilato

WSL – White Spot Lesion

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma das doenças mais prevalentes que afeta o ser humano (Elkassas & Arafa, 2014; Shikha Singh, Sharma, Sood, Sood, & Zaidi, 2015). As primeiras manifestações desta doença são as lesões de esmalte não cavitadas. Estas lesões surgem como resultado da desmineralização do esmalte, podendo as mesmas ser revertidas se forem diagnosticadas a tempo (Paula et al., 2017).

Atualmente existem sistemas de diagnóstico e tratamento que permitem abordar a doença de cárie desde os seus estadios iniciais de uma forma mais conservadora (Bader, Shugars, & Bonito, 2001). Deste modo, consegue-se prevenir a progressão da doença de cárie e manter a integridade da estrutura dentária (Elkassas & Arafa, 2014).

1.1. ESMALTE HUMANO

A camada mais externa da coroa anatómica de cada dente é constituída pelo esmalte: o tecido mais duro do corpo humano (Gwinnett, 1992). A sua função é proteger a estrutura dentária de estímulos físicos, químicos e térmicos (Lacruz, Habelitz, Wright, & Paine, 2017). Devido às suas propriedades mecânicas, o esmalte dentário é alvo de grande interesse por parte da comunidade científica (He & Swain, 2007).

1.1.1. Constituição e propriedades químicas

O esmalte maturo é constituído principalmente por matéria inorgânica, 96% do seu peso corresponde a cristais de hidroxiapatite (HA), cuja fórmula estequiométrica é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. O resto da composição corresponde a 1% de matéria orgânica, como lípidos e proteínas, e 3% a água (X. Li, Wang, Joiner, & Chang, 2014). Os grupos hidroxilo dos cristais de HA podem ser substituídos por outros iões, tais como o flúor, cloro ou carbono presentes em soluções que circundam o esmalte (Lacruz et al., 2017). Estas alterações afetam as propriedades químicas do mineral, principalmente a sua solubilidade (West, Joiner, Care, East, & Ch, 2014). Cristais de apatite ricos em carbono são suscetíveis à desmineralização, dissolvendo-se a pH 5. No entanto, a substituição do grupo hidroxilo pelo anião flúor diminui a solubilidade. Os cristais de fluoroapatite (FA) são mais resistentes à desmineralização, suportando valores de pH 4 sem se dissolverem (Lacruz et al., 2017; West et al., 2014).

1.1.2. Estrutura

O esmalte apresenta uma estrutura hierárquica, complexa e altamente mineralizada (Fincham, Moradian-Oldak, & Simmer, 1999), na qual o elemento base é o cristal de HA. Cada cristal tem aproximadamente 5 μm de diâmetro, 68 μm de largura e 26 μm de espessura (He & Swain, 2007).

Os cristais de HA associam-se formando prismas de esmalte, os quais, na parte central, possuem cristais paralelos entre si e, ao mesmo tempo, paralelos ao longo eixo do prisma. No entanto, na extremidade de cada prisma, os cristais dispõem-se formando um ângulo de 45° com o longo eixo do prisma de esmalte (He & Swain, 2007). Cada prisma é constituído por, aproximadamente, 1000 cristais de HA (Robinson et al., 2000).

Os prismas de esmalte estão embebidos numa camada proteica que estabiliza a estrutura hierárquica do esmalte e contribui para a difusão de substâncias (Robinson et al., 2000). Para além disto, estas proteínas regularizam as propriedades nanomecânicas do esmalte quando é submetido a uma força (He & Swain, 2007).

Em relação à macroestrutura do esmalte dentário, podemos dizer que, anatomicamente, o esmalte não é uniforme, não apresentando a mesma densidade em todas as localizações da coroa dentária e sendo o esmalte superficial mais denso do que o esmalte que se encontra perto da dentina (Robinson et al., 2000). Deste modo, as cúspides apresentam um esmalte mais espesso do que os sulcos, fissuras e colo do dente (Gwinnett, 1992).

1.1.3. Propriedades mecânicas

Devido à sua composição e estrutura, o esmalte dentário possui propriedades únicas, como a dureza, a elasticidade e a resistência à fratura (Gwinnett, 1992).

Para estudar estas propriedades utilizam-se testes de microdureza, como os indentadores de Vickers ou de Knoop (Habelitz, Marshall, Jr, & Balooch, 2001). Estes testes podem-se combinar também com Microscopia Eletrónica de Varrimento (MEV). Estudos anteriores que associaram a microdureza de Vickers com a MEV demonstraram, microscopicamente, anisotropia das propriedades mecânicas do esmalte dentário (Habelitz et al., 2001). É por este motivo que o esmalte dentário não tem um único valor exato de microdureza, mas sim um intervalo compreendido entre dois valores (Gwinnett, 1992; Habelitz et al., 2001).

A dureza é a capacidade de resistir à deformação por compressão e à fratura (Zhang, Du, Zhou, & Yu, 2014). Consoante o teste de Vickers, este tecido apresenta uma microdureza de 188-478 HV, ou 200-500 HK segundo o teste de Knoop (Gwinnett, 1992). Estes dois métodos diferem principalmente na forma do indentador e profundidade de indentação. Enquanto o indentador de Vickers é uma pirâmide de base quadrada, o de Knoop possui uma base mais alongada (Lippert & Lynch, 2014).

O teste de microdureza de Vickers é frequentemente utilizado em estudos *in vitro* e *ex vivo* para avaliar, a partir de valores de microdureza, alterações na superfície de esmalte aquando da aplicação de produtos comerciais. É um teste relativamente simples, que oferece resultados fiáveis (Elkassas & Arafa, 2014; Rani et al., 2016). Como foi referido anteriormente, a microdureza de Vickers complementa-se com a MEV, teste que nos permite observar mudanças ultra-morfológicas na superfície de esmalte (Elkassas & Arafa, 2014).

1.2. CÁRIE DENTÁRIA

1.2.1. Definição

A cárie dentária é um processo patológico, localizado, de origem multifatorial que tem início após a erupção dentária, e que pode produzir perda dos tecidos duros do dente e evoluir para a formação de uma cavidade (Selwitz, Ismail, & Pitts, 2007).

Podemos considerar a cárie dentária como uma doença crónica e progressiva que se instala no hospedeiro após a interação de diversos fatores durante um período de tempo (Selwitz et al., 2007). Esta doença apresenta como manifestação a lesão de cárie (Pitts, 2004a).

Segundo Keyes (1960), a presença de três fatores e a relação entre eles contribuem para o desenvolvimento da doença de cárie. Estes fatores são: a presença de microrganismos criogénicos, como o *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus*, que fazem parte da placa bacteriana aderida às superfícies dentárias; o hospedeiro, isto é, os dentes e a saliva; e o substrato, que é constituído pela dieta, ou mais especificamente pela quantidade de hidratos de carbono fermentáveis consumidos pelo indivíduo (Jarjoura, Gagnon, & Nieberg, 2006; Selwitz et al., 2007). Outros fatores como o nível socioeconómico, hábitos comportamentais ou a educação do paciente podem

também influenciar para o aparecimento e desenvolvimento da doença de cárie (Fejerskov, 2004).

O processo contínuo da doença de cárie passa por vários estádios, desde lesões de esmalte a nível molecular até a destruição completa do dente. Em qualquer dos estádios ou fases da doença pode haver intervenção clínica no sentido do controlo do processo de destruição dos tecidos dentários. É importante conhecer as características clínicas das lesões de cárie nas várias fases da doença para se fazer um correto diagnóstico e um tratamento adequado consoante o tipo de lesão (Fejerskov, Nyvad, & Kidd, 2015).

1.2.2. Aspetos bioquímicos e histológicos

Na cavidade oral, o esmalte é influenciado pelas interações com o microambiente que o rodeia. Este ambiente é constituído principalmente pela saliva. É por esta razão que a saliva tem um papel relevante nos aspetos bioquímicos e histológicos da cárie dentária (Fejerskov et al., 2015).

Sobre o ponto de vista bioquímico, o processo de formação de lesões de cárie é um desequilíbrio patogénico entre desmineralização e remineralização do esmalte dentário (Abdullah & John, 2016).

As bactérias anaeróbias, presentes no biofilme, fermentam os hidratos de carbono procedentes da dieta, dando como produto final ácidos. A presença destes ácidos, concretamente do ácido láctico, propanoico, acético ou fórmico (Featherstone, 2004), provoca uma diminuição do pH da placa bacteriana, atingindo valores de pH crítico no esmalte de 5,5 (West et al., 2014). A estes níveis de pH, os cristais de HA do esmalte dentário dissolvem-se libertando iões cálcio e fosfato para a placa bacteriana e saliva (Abdullah & John, 2016; Rani et al., 2016). Isto traduz-se histologicamente pela formação de porosidades na matriz de esmalte dentário (Abdullah & John, 2016), como consequência da dissolução parcial da superfície dos cristais de HA (Fejerskov et al., 2015). Tais porosidades, facilitam a difusão de ácidos e consequentemente a dissolução de minerais presentes na matriz do esmalte (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

Este processo, chamado desmineralização, começa na superfície dos cristais do esmalte e, se não for revertido, continua com a formação de lesões de cárie não cavitadas, que podem evoluir até a formação de lesões de cárie cavitadas (Azizi, 2015).

Nesta fase, a saliva, que banha a cavidade oral, adota uma função determinante, pois remineraliza as lesões reincorporando iões cálcio, fosfato e flúor às superfícies

dentárias desmineralizadas. Estes iões formam novos cristais sobre a superfície da lesão, os quais são mais resistentes aos ácidos, e menos solúveis que o mineral original. Podemos considerar a remineralização, causada pela saliva, um processo natural de reparação das lesões iniciais de esmalte não cavidades (Featherstone, 2008).

Diversos fatores influenciam este processo dinâmico e multifatorial (Young et al., 2015). Os fatores patológicos, como as bactérias acidogénicas, a disfunção salival e uma dieta rica em hidratos de carbono fermentáveis, contribuem para a desmineralização. Por outro lado, os fatores protetores como o fluxo salival e os seus constituintes, uma boa higiene oral, uma dieta pouco cariogénica, o uso de substâncias exógenas com flúor, cálcio e fosfato ou substâncias que estimulem a produção de saliva, como pastilhas elásticas, colaboram na remineralização (Featherstone, 2008).

São estes fatores, patológicos e protetores, os responsáveis por determinar se o processo de cárie progride, inverte ou mantém-se em equilíbrio (Featherstone, 2008). A desmineralização e a remineralização são um processo fisiológico, dinâmico e contínuo, presente nas estruturas dentárias desde o momento da erupção, influenciado por fatores patológicos e protetores que poderão levar ao desequilíbrio deste processo e à consequente formação de lesões de cárie ou à remineralização da lesão (Azizi, 2015). Caso a remineralização prevaleça, o desenvolvimento da lesão detém-se, ou seja, a lesão não progride (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

1.2.3. Manifestações clínicas e classificação

As lesões de cárie podem manifestar-se de diferentes maneiras ao longo da doença e, geralmente, formam-se nas zonas de difícil acesso onde a placa bacteriana se acumula (Fejerskov et al., 2015).

Devido às diversas manifestações desta doença, surgem diferentes classificações. Para realizar uma correta classificação, a superfície dentária a ser examinada tem de estar limpa e seca (com jato de ar), a luz terá de ser a adequada e para a exploração deve-se utilizar uma sonda exploratória comunitária (Young et al., 2015).

Podemos classificar as lesões de cárie consoante a localização anatómica da lesão, o local de origem ou a atividade da lesão (Fejerskov et al., 2015; Young et al., 2015). Estas classificações ajudam a determinar o risco de cárie e as recomendações de tratamento (Sala & García, 2013).

Consoante a **localização anatômica**, as lesões de cárie, podem aparecer nas fossas e fissuras, superfícies proximais, margem gengival e superfícies lisas. Esta classificação indica as zonas mais suscetíveis à acumulação de placa bacteriana (Fejerskov et al., 2015).

Consoante o **local de origem**, as lesões de cárie podem ter início no esmalte, denominadas cáries de esmalte; outras têm origem no cimento ou dentina de superfícies radiculares expostas, cárie radicular (Selwitz et al., 2007).

Para registar a atividade das lesões de cárie é imprescindível a existência de alterações na estrutura dentária. Segundo a **atividade da lesão**, podemos encontrar lesões ativas ou inativas. Consideram-se ativas aquelas lesões nas quais o processo de desmineralização continua. Quando o processo de desmineralização não progride, a lesão considera-se inativa. Embora esta classificação possa ser de difícil análise para o clínico, é de extrema importância tê-la em conta para decidir o tratamento da lesão, pois se uma lesão está inativa, não precisa de tratamento para prevenir a sua progressão. As lesões ativas são moles e rugosas ao tato com a sonda, enquanto as inativas são duras e lisas (Fejerskov et al., 2015; Young et al., 2015).

Tendo isto em conta, a American Dental Association (ADA) criou um sistema de classificação de lesões de cárie (CCS), que considera as classificações de outros sistemas já existentes, harmonizando todos os conceitos num único sistema para um uso funcional na prática clínica. Este sistema inclui lesões cavitadas e não cavitadas e descreve-as segundo as suas características clínicas, relacionando-as com os achados radiográficos e determina a atividade da lesão (Young et al., 2015).

Segundo o ADA-CCS, as superfícies dentárias podem ser classificadas como:

Superfície sem lesão clinicamente detetável ou superfície sã. O tecido dentário apresenta as características consideradas normais, em relação à cor, brilho e opacidade. Neste ponto também estão incluídos os dentes com restaurações ou selantes em bom estado, sem presença de sinais de cárie (Young et al., 2015).

Lesão de cárie incipiente. Neste grupo estão incluídas as lesões que se formam após uma perda mínima de tecido mineral de esmalte ou cimento. São apenas detetáveis com a superfície totalmente seca. As características clínicas, nesta fase, não são as normais. Consegue-se apreciar uma mudança de cor e opacidade. Se a lesão estiver ativa, nas superfícies do dente aparecem manchas bem definidas de cor branca, sem brilho, opacas e rugosas ao tato. Por outro lado, se a lesão estiver inativa manifesta-se como uma mancha branca, amarelada ou até acastanhada, brilhante, lisa e dura. Estas lesões recebem

o nome de *white spots lesions* (WSL) e são das primeiras alterações do esmalte visíveis, após a secagem deste com o jato de ar (Young et al., 2015).

Por vezes pode ser difícil diferenciar um WSL ativo ou inativo. A principal diferença encontra-se na camada superficial da lesão, já que esta é menos porosa que o corpo da lesão. Numa lesão remineralizada ou inativa esta camada superficial apresenta uma maior espessura. No processo de remineralização dos WSL, junto com os minerais, que são incorporados na superfície da lesão, podem-se incorporar componentes orgânicos tais como pigmentos alimentares. É por este motivo que alguns dos WSL remineralizados apresentam uma cor acastanhada. Este tipo de lesões recebe o nome de *enamel scars* (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

Neste grupo também está incluída a pigmentação, acastanhada ou esbranquiçada, de fosas e fissuras das superfícies oclusais de molares e pré-molares (Young et al., 2015). Estas lesões iniciais não apresentam cavitação e podem ser revertidas com a remineralização (Hendrik Meyer-lueckel, Wierichs, Schellwien, & Paris, 2015).

Lesão de cárie moderada. A perda mineral nestas lesões é maior do que nas anteriores, aparecendo por vezes microcavidades e sombras acinzentadas no esmalte, que indicam que a dentina está infetada (Young et al., 2015).

Lesões de cárie avançadas. Nesta fase aparece uma grande cavitação no esmalte que expõe a dentina (Young et al., 2015).

Independentemente da localização, as lesões de cárie cavitadas ativas apresentam uma cor amarela ou acastanhada e são moles e rugosas ao tato com a sonda. Se estas lesões estiverem inativas, a cor é mais escura e a superfície, ao tato, é dura e lisa (Sala & García, 2013).

Esta classificação serve tanto para lesões de cárie primária, como para lesões de cárie secundária. As lesões de cárie primária são aquelas que aparecem pela primeira vez nas superfícies dentárias não restauradas. Por outro lado, as lesões de cárie secundária ou recorrentes aparecem na superfície dentária adjacente a restaurações previamente realizadas (Young et al., 2015).

1.2.4. Diagnóstico e índices de classificação

Considera-se o diagnóstico de cárie como a classificação de observações de acordo com aquilo que se conhece a respeito da etiologia, patologia, tratamento, prevenção e prognóstico de cada tipo de lesão observada (Fejerskov et al., 2015).

Para diagnosticar a doença de cárie existem dois métodos: o clínico e o epidemiológico (Pitts, 2004b). No primeiro, o objetivo passa por identificar a lesão ou lesões de cárie presentes no indivíduo, avaliar a atividade da lesão e a progressão desta, para poder assim sugerir uma opção terapêutica apropriada segundo o caso. Assim sendo, podemos dizer que o diagnóstico clínico é uma “guia” para o tratamento (Sala & García, 2013). Por outro lado, o diagnóstico epidemiológico baseia-se na recolha de dados para analisar a etiologia, prevalência, incidência e gravidade da doença de cárie ao nível da população. Deste modo, através de estudos epidemiológicos, consegue-se estimar as necessidades da população, em termos de saúde e serviços. Para tal, este segundo tipo de diagnóstico, padroniza um critério válido e rejeita as situações ambíguas (Sala & García, 2013).

Em 1977, Pitts representou graficamente, no iceberg da cárie dentária, os diferentes estadios da doença de cárie e atribuiu a cada um o tipo de tratamento adequado para o caso. Na base do iceberg situam-se as lesões de cárie subclínicas e aquelas lesões que apenas são visíveis radiograficamente; de seguida encontram-se as lesões clinicamente detetáveis com a superfície intata; depois, as lesões cavitadas de esmalte seguidas das cavitações em dentina; e, no topo do iceberg, lesões que atingem a polpa dentária (Pitts, 2004a).

No diagnóstico epidemiológico, considera-se que existe lesão de cárie a partir da lesão cárie cavitada de esmalte, sendo rejeitados os estadios anteriores, evitando assim dúvidas de diagnóstico que possam surgir perante lesões iniciais de esmalte ou dentina não cavitadas. Com este critério conseguem-se estudos epidemiológicos válidos e fiáveis, embora as lesões iniciais não sejam consideradas (Sala & García, 2013). No entanto, na prática clínica, é conveniente detetar as lesões de cárie iniciais para poder mudar o curso natural da doença de cárie e evitar tratamentos mais invasivos (Fejerskov et al., 2015).

Entre os métodos de diagnóstico destacam-se a exploração clínica visual e tátil, métodos radiográficos de diagnóstico, sejam radiografias convencionais ou digitais, transiluminação com fibra ótica (FOTI) e outros métodos mais recentes como o método de condutibilidade elétrica (ECM) ou a fluorescência, DIAGNOdent (Bader et al., 2001).

Em 1999, foi desenvolvido um novo sistema de diagnóstico que diferenciava lesões ativas de lesões inativas de acordo com um conjunto de critérios táteis e visuais. Este sistema categoriza a gravidade das lesões em três níveis: superfície intata, descontinuidade superficial do esmalte e cavidade evidente na dentina. A atividade das lesões é determinada através de sinais clínicos como a cor, textura e brilho, sendo o

critério de diagnóstico essencialmente visual e tátil pelo uso da sonda, que determina a textura da superfície (Nyvad, Machiulskienec, & Baelumb, 1999)

Atualmente destaca-se o sistema ICDAS II (*International Caries Detection and Assessment System II*). Este resulta útil na prática clínica, no âmbito da investigação e em saúde pública (Pitts & Ekstrand, 2013).

Com o sistema ICDAS II pretendeu-se criar um método de diagnóstico internacional, com critérios clínicos consensuais, para a deteção e classificação de lesões de cárie, desde os estadios iniciais da lesão até a cavitação franca, através da inspeção principalmente visual da superfície dentária. Para além disto, com ICDAS II consegue-se avaliar a atividade e gravidade das lesões de cárie (Pitts & Ekstrand, 2013).

Este sistema conta com dois dígitos. O primeiro refere o estado da superfície dentária, se esta íntegra, selada ou restaurada, e o segundo refere-se à presença ou não de lesão de cárie e o seu estado (Ismail et al., 2007).

Em 2005, o sistema ICDAS foi atualizado em Baltimore-Maryland, USA, recebendo o nome de ICDAS II. Esta atualização inclui o critério 0, que representa a saúde dentária (Pitts & Ekstrand, 2013). Nas tabelas 1 e 2 encontram-se os diferentes códigos utilizados nesta classificação.

Tabela 1. Critérios associados ao estado da superfície dentária baseados no ICDAS II.

<i>Códigos</i>	<i>Descrição dos critérios clínicos</i>
<i>Código 0</i>	Não restaurado nem selado
<i>Código 1</i>	Parcialmente selado
<i>Código 2</i>	Totalmente selado
<i>Código 3</i>	Restauração da cor do dente
<i>Código 4</i>	Restauração a amálgama
<i>Código 5</i>	Coroa metálica
<i>Código 6</i>	Coroa cerâmica, em ouro metalo-cerâmica ou faceta
<i>Código 7</i>	Restauração fraturada ou perdida
<i>Código 8</i>	Restauração provisória

Tabela 2. Critérios associados à presença ou não de cárie e ao seu estado, baseados no ICDAS II

<i>Códigos</i>	<i>Descrição dos critérios clínicos</i>
<i>Código 0</i>	Esmalte saudável
<i>Código 1</i>	Alterações de esmalte visíveis com esmalte seco
<i>Código 2</i>	Alterações inequívocas de esmalte visíveis
<i>Código 3</i>	Cavidade do esmalte sem dentina visível
<i>Código 4</i>	Sombra escura de dentina vista do esmalte sem cavidade
<i>Código 5</i>	Cavidade com exposição da dentina
<i>Código 6</i>	Extensa cavidade com exposição da dentina

1.3. TRATAMENTO DE LESÕES DE ESMALTE NÃO CAVITADAS

Hoje em dia, com a evolução das técnicas e materiais, a abordagem em Medicina Dentária é mais conservadora do que há alguns anos atrás (Abdullah & John, 2016; Coelho, Macho, Ferreira, & Carrilho, 2014).

O diagnóstico precoce e apropriado, tratamentos preventivos e intervenções minimamente invasivas são a base da filosofia conservadora da Medicina Dentária da atualidade (Abdullah & John, 2016). O tratamento dos WSL, tendo em conta a integridade do dente e a possibilidade de remineralização, é um bom exemplo disto (Azizi, 2015; Coelho et al., 2014; Elkassas & Arafa, 2014). Os WSL, são as primeiras manifestações visíveis a olho nu da doença de cárie (Abdelaziz et al., 2016; Paula et al., 2017). Estas lesões são o resultado da diminuição da translucidez da superfície de esmalte devido às modificações óticas, que surgem aquando da desmineralização inicial do esmalte dentário. Por conseguinte, aparecem como manchas brancas opacas na superfície do esmalte (Abdullah & John, 2016; Borges, Caneppele, Masterson, & Maia, 2017; Sugiura, Kitasako, Sadr, Shimada, & Sumi, 2016).

1.3.1. Remineralização das lesões de cárie

A remineralização, como foi mencionado no ponto 1.2.2, é um processo natural de reparação das lesões de cárie formadas pelo desequilíbrio entre a perda de minerais e a sua recuperação (Featherstone, 2008). A saliva, que banha a cavidade oral, é imprescindível neste processo natural de remineralização por ser uma fonte de iões inorgânicos que neutraliza os ácidos, responsáveis pela desmineralização (Bayram, Kusgoz, Yesilyurt, & Nur, 2017).

Porém, a remineralização natural das lesões incipientes de cárie apresenta limitações, pois é um processo demorado; principalmente nas zonas desmineralizadas de maior profundidade onde a presença de substâncias orgânicas, que ocluem as microporosidades, dificulta a remineralização total da lesão (Azizi, 2015; Sombir Singh, Singh, Goyal, Utreja, & Jena, 2016).

É por esta razão que, para prevenir o desenvolvimento das lesões iniciais de esmalte, podemos estimular a remineralização destas através de agentes remineralizadores (Abdullah & John, 2016; Sombir Singh et al., 2016; Sugiura et al., 2016).

1.3.1.1. Flúor

Entre os agentes remineralizadores destacam-se os **produtos fluoretados** (Bayram et al., 2017; Sombir Singh et al., 2016). O principal efeito de prevenção de cárie dos produtos fluoretados atinge-se com aplicação tópica pós eruptiva (Mohammed, Lynch, & Anderson, 2013).

Ao realizarmos uma aplicação tópica de flúor, este ião reage com o cálcio da saliva, formando um precipitado de fluoreto de cálcio (CaF_2) na superfície do esmalte (Mohammed et al., 2013; Sala & García, 2013). Este precipitado protege a superfície de esmalte e serve de reservatório de flúor. Quando o pH diminui, isto é, quando prevalece a desmineralização, há uma troca dos grupos hidroxilo dos cristais de HA, pelo ião flúor do precipitado, formando-se assim cristais de FA (Mohammed et al., 2013), que são menos solúveis que os cristais de HA, oferecendo assim maior microdureza à superfície de esmalte (Bayram et al., 2017).

Embora o flúor seja responsável pela remineralização, a presença dos iões cálcio e fosfato, presentes na saliva e na placa supra-gengival, contribuem também para este processo (Memarpour, Fakhraei, Dadaein, & Vossoughi, 2015).

Na atualidade, podemos encontrar diferentes formas de aplicação tópica de produtos com flúor. Entre estes destacam-se pastas, colutórios, vernizes ou géis fluoretados (Sombir Singh et al., 2016).

O método mais utilizado é a escovagem com pastas dentífricas fluoretadas (Wierichs, Zelck, Doerfer, Appel, & Paris, 2017). Este método de autoaplicação de flúor está indicado para toda a população, independentemente do risco de cárie (Sala & García, 2013). O flúor é difundido pela superfície dentária, placa e saliva, proporcionando concentrações de flúor na cavidade oral (X. Li et al., 2014). Podemos encontrar pastas

com diferentes concentrações, desde os 250 ppm até os 5000 ppm de flúor (Paula et al., 2017).

Sabe-se que a utilização de dentífricos com doses elevadas de flúor, 5000 ppm, previne a desmineralização, pois este ião em concentrações mais elevadas bloqueia a camada mais superficial do esmalte aumentando a resistência à desmineralização. No entanto, os dentífricos em concentrações mais baixas, 1000 ppm de flúor, são eficientes na remineralização de lesões de cárie incipientes, pois o ião cálcio do precipitado de CaF_2 consegue penetrar nas microporosidades destas lesões remineralizando-as (Sombir Singh et al., 2016).

Como método de aplicação tópica de flúor pelo profissional de saúde encontramos os vernizes fluoretados (Subramaniam & Telegeti, 2016). Estes são aplicados pelo Médico Dentista em pacientes de médio e alto risco de cárie (Helwig & Lennon, 2004). Quando aplicados, formam um reservatório de flúor de libertação lenta (Ahovuo-Saloranta, Forss, Hiiri, Nordblad, & Mäkelä, 2016). Isto permite que o ião flúor reaja com os cristais de HA do esmalte dentário durante um longo período de tempo, o que se traduz numa penetração de flúor mais profunda (Sombir Singh et al., 2016). A comunidade científica afirma que os vernizes de flúor aumentam a microdureza de esmalte (Subramaniam & Telegeti, 2016).

Outra via de aplicação do flúor é a via sistémica, através de comprimidos, do consumo de água fluoretada, ou de outros produtos como o sal e o leite (Fejerskov, 2004; Helwig & Lennon, 2004).

1.3.1.2. Caseína Fosfopeptídica – Fosfato de Cálcio Amorfo (CPP-ACP)

Nos últimos anos, têm vindo a ser desenvolvidos agentes remineralizadores baseados nos constituintes proteicos do leite. Desde os anos 50 sabe-se que os produtos lácteos têm poder cariostático, mas o leite em si, como fonte natural, apresenta uma eficácia limitada. Para prevenir a doença de cárie um indivíduo teria que consumir grandes quantidades de produtos lácteos. Tendo isto em conta, os investigadores focaram-se nos fatores protetores do leite para o desenvolvimento de novos produtos (Taranath, Pai, & Chakravarthy, 2014). Mais especificamente, na fosfoproteína láctea Caseína Fosfopeptídica, CPP (Bayram et al., 2017).

Anteriormente, os íões cálcio e fosfato já tinham sido usados clinicamente como agentes remineralizadores. Devido à baixa solubilidade destes íões, principalmente na presença de flúor, não tiveram sucesso (Reynolds, 2008).

O CPP, constituído pela sequência de aminoácidos (Ser(P)-ser(P)-Glu-Glu), pode ser purificado em nano complexos de CPP-ACP por precipitação seletiva, troca de íões ou ultrafiltração (J. Li et al., 2014). O CPP estabiliza íões cálcio e fosfato, o que permite a formação do complexo CPP-ACP (Memarpour et al., 2015; Rani et al., 2016; Reynolds, 2008).

O CPP-ACP, quando permanece ligado à placa bacteriana e à superfície dentária, constitui uma fonte de reserva de íões cálcio e fosfato para o esmalte dentário, contribuindo assim para a remineralização das zonas desmineralizadas graças ao aumento do conteúdo mineral do esmalte (Bayram et al., 2017; Rani et al., 2016).

Em condições de pH ácido, quando predomina a desmineralização, o complexo CPP-ACP dissocia-se em íões cálcio e fosfato livres. Estes íões contribuem para o aumento do pH, neutralizando-o e prevenindo assim a desmineralização (Sombir Singh et al., 2016).

Segundo alguns estudos, a microdureza do esmalte superficial aumenta com a aplicação deste nano-complexo (Bayram et al., 2017), e a atividade de cárie diminui conforme a concentração de CPP-ACP aplicada (Reynolds, 2008).

Podemos encontrar CPP-ACP em pastas de aplicação tópica, em pastilhas elásticas (Reynolds, 2008), colutórios, *sprays* muco-dentários e comprimidos (Taranath et al., 2014).

Este produto apresenta como limitação a impossibilidade do seu uso em indivíduos intolerantes à lactose, pois este composto dissolve-se na saliva, podendo ser deglutida e não tolerada pelo organismo, mesmo que em pequenas quantidades. Outra das desvantagens é que o CPP-ACP, não contém flúor (Taranath et al., 2014).

O CPP-ACP, na presença de flúor, interage com este íão formando fosfato de cálcio amorfo fluoretado (ACFP). O complexo **CPP-ACFP** possui todos os elementos necessários para a remineralização (J. Li et al., 2014; Sombir Singh et al., 2016). As superfícies de esmalte tratadas com CPP-ACFP são mais resistentes ao ataque ácido, devido à formação de cristais de FA, os quais apresentam uma menor solubilidade quando comparados com o cristal de HA (Taranath et al., 2014). Diversos estudos concluem que a utilização adjuvante de CPP-ACP e flúor tem maior potencial remineralizador do que a

utilização de ambos elementos em separado (Elkassas & Arafa, 2014; J. Li et al., 2014; Reynolds, 2008; Sombir Singh et al., 2016).

1.3.2. Resina Infiltrante

No início do século XXI surge uma opção terapêutica minimamente invasiva para lesões de cárie de esmalte incipientes, não cavitadas, que foram remineralizadas e já não apresentam potencial remineralizador (Borges et al., 2017; Tawakoli, Attin, & Mohn, 2016). Esta nova terapêutica baseia-se na utilização de resinas infiltrantes fotopolimerizáveis. Algumas das suas características são a baixa viscosidade e um elevado coeficiente de penetração (Abdullah & John, 2016), o que lhes permite infiltrar, graças a forças capilares, pelas microporosidades do esmalte desmineralizado (Min, Inaba, Kwon, Chung, & Kim, 2015). Uma vez fotopolimerizada, a resina infiltrante oclui as porosidades do esmalte e, conseqüentemente, bloqueia o processo de difusão de ácidos, protegendo assim o remanescente dentário (Lausch, Askar, Paris, & Meyer-lueckel, 2017; Sfalcin et al., 2016).

Esta abordagem clínica, que trata lesões até o primeiro terço da dentina (D1), tem como objetivos interromper a progressão da lesão de cárie incipiente e mascarar as lesões de mancha branca, melhorando assim a estética dentária do paciente (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2012; Sfalcin et al., 2016). A técnica descrita é amplamente aplicada em pacientes jovens que apresentam WSL na face vestibular, após a remoção de aparelho fixo ortodôntico (Lee, Chen, Omar, Know, & Meharry, 2016). Para proceder ao tratamento estético destas lesões os fatores patogénicos, que desencadeiam os WSL, devem estar controlados e o paciente deve comprometer-se a manter uma higiene oral adequada (Knösel, Eckstein, & Helms, 2013).

Hoje em dia há apenas um kit para a infiltração de lesões de cárie incipientes no mercado: Icon ® (DMG, Hamburg, Germany). Este produto está disponível para lesões interproximais e para lesões em superfícies lisas (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

Antes de dar começo a este tratamento minimamente invasivo, as superfícies dentárias devem ser limpas com recurso de pasta profilática e os tecidos gengivais do paciente devem ser protegidos. Posto isto, procede-se ao condicionamento ácido da lesão (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

Como foi referido anteriormente, os WSL apresentam uma pseudocamada superficial, a qual é menos porosa que o corpo da lesão, dificultando assim a infiltração da resina. Esta pseudocamada é removida pela ação de um gel de ácido clorídrico a 15%, *Icon-Etch*, durante 2 minutos. Seguidamente, este gel será aspirado e lavado (Lausch et al., 2017; Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2012).

As lesões inativas ou remineralizadas apresentam uma pseudocamada superficial de maior espessura que as ativas. Para a erosão completa desta camada, nas lesões inativas, recomenda-se um maior condicionamento ácido. Apenas com uma aplicação de ácido clorídrico a 15% durante 2 minutos, numa lesão ativa, consegue-se eliminar entre 30-40µm da pseudocamada superficial que cobre o corpo da lesão. As pigmentações mais superficiais, que se encontram nesta camada, também são eliminadas após o ataque ácido. Este condicionamento altera a aparência da lesão tornando-a mais branca e brilhante (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

De seguida, procede-se a uma etapa de grande relevância: a lesão é dissecada. Com este passo procura-se eliminar todas as impurezas que possam impedir a infiltração capilar da resina de baixa viscosidade e confirmar se a pseudocamada superficial foi completamente erodida. Para tal recorre-se à secagem com jato de ar, seguida de uma aplicação de *Icon-Dry*, que contém 99% de etanol, e de outra secagem com jato de ar (Kim, Kim, Jeong, & Kim, 2011). O etanol permite confirmar se as microporosidades da lesão se encontram completamente limpas para ser infiltradas. Se este líquido for absorvido num período de 3-5 segundos e, como consequência, alterar a aparência da lesão, passando de esbranquiçada para o aspeto de esmalte são, sabemos que a resina de baixa viscosidade infiltrar-se-á nas microporosidades adequadamente. Se isto não acontecer, é aconselhada uma segunda aplicação de ácido clorídrico (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2012, 2016).

A resina infiltrante é aplicada durante 3 minutos de forma abundante, servindo para ocluir as microporosidades mais profundas e, posteriormente, é polimerizada; mas antes disto deve-se remover o excesso de resina, com ajuda de um rolo de algodão nas superfícies lisas ou com o fio dentário nas superfícies interproximais, de maneira que apenas seja fotopolimerizada a resina que se encontra no interior das porosidades (Kim et al., 2011).

O último passo da sequência deste tratamento é o polimento da superfície da lesão, o qual é de elevada importância para alisar as porosidades causadas pelo ataque ácido e remover a camada inibida pelo oxigénio, que pode atrair pigmentos que provêm da

alimentação. Deste modo, o polimento da superfície aumenta a estabilidade da cor da área infiltrada, contribuindo assim para o sucesso a longo prazo da resina infiltrante (S Paris, Schwendicke, Keltsch, Dörfer, & Meyer-lueckel, 2013).

O procedimento completo demora aproximadamente 20-30 minutos, e tem um resultado normalmente satisfatório para o paciente, pois observa-se uma alteração da cor da lesão imediata que vai aumentando à medida que o dente for hidratando (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

Segundo estudos anteriores, a resina infiltrante, para além de diminuir a progressão da lesão de cárie inicial e de a mascarar, aumenta a microdureza do esmalte dentário (S Paris, Schwendicke, Seddig, & Mu, 2013).

Esta técnica, foi desenvolvida originariamente para ser aplicada em lesões de origem cariogénica; no entanto, pode-se aplicar noutro tipo de lesões cuja manifestação também seja a mancha branca (leve ou moderada) no esmalte dentário. Defeitos de desenvolvimento do esmalte, como fluorose ou lesões de mancha branca originadas nos dentes definitivos após trauma de um dente decíduo, também têm indicação para serem tratados com resina infiltrante. No entanto, para lesões de hipomineralização molar-incisiva esta técnica não oferece resultados tão satisfatórios (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

Uma das limitações deste tipo de resinas é o facto de não serem recomendadas para lesões iniciais de esmalte nas fossas e fissuras das superfícies oclusais. A principal razão deste fenómeno é a ausência de carga por parte das resinas infiltrantes, pelo que não possuem as propriedades mecânicas recomendadas para serem aplicadas em superfícies oclusais. Devido a esta desvantagem surgiram resinas infiltrantes que contêm partículas com carga na sua composição (Lausch et al., 2017).

Um estudo recente, em lesões artificiais, demonstrou que as resinas infiltrantes com carga penetram em profundidade lesões de fossas e fissuras; sempre que seja aplicado um pré-tratamento que elimine a camada superficial, a qual oclui as porosidades do corpo da lesão de esmalte. As fossas e fissuras podem obstaculizar a erosão da camada superficial, pelo que o pré-tratamento deve ser mais abrasivo do que nas superfícies lisas. Depois de um pré-tratamento adequado, as porosidades do corpo da lesão estarão preparadas para receber o infiltrante (Lausch et al., 2017). Parte da matriz de resina penetra o corpo da lesão através de forças capilares, enquanto as partículas com carga ficam embebidas na restante matriz de resina, situando-se na superfície da lesão, como acontece nas resinas compostas (Askar, Lausch, Do, Meyer-lueckel, & Paris, 2015).

1.4. PERTINÊNCIA DO ESTUDO

Hoje em dia, a abordagem em Medicina Dentária deve ser a mais preventiva, a menos invasiva e conservadora possível. Para tal, o diagnóstico precoce e intervenções preventivas são imprescindíveis.

Tratamentos não invasivos ou minimamente invasivos como a remineralização e/ou a infiltração de lesões de cárie incipientes, permitem ao clínico controlar a doença de cárie e a sua evolução.

1.5. OBJETIVOS

São objetivos do estudo, após a indução artificial de cárie dentária:

- Quantificar a microdureza de superfície do esmalte, quando se aplica um pré-tratamento com Caseína Fosfopeptídica – Fosfato de Cálcio Amorfo, seguido de uma aplicação da resina infiltrante de esmalte.
- Comparar a microdureza de superfície do esmalte, quando envolvemos distintos agentes como Caseína Fosfopeptídica – Fosfato de Cálcio Amorfo, uma resina infiltrante de esmalte, versus um controlo ou placebo.
- Qualificar a superfície do esmalte, quando se aplica um pré-tratamento com Caseína Fosfopeptídica – Fosfato de Cálcio Amorfo seguido de uma aplicação da resina infiltrante de esmalte.

1.6. HIPÓTESE NULA

Deste modo, foi equacionada a seguinte hipótese:

- Não existem diferenças na microdureza de superfície do esmalte, nem no aspeto microscópico, quando se aplica um pré-tratamento à base de Caseína Fosfopeptídica – Fosfato de Cálcio Amorfo, antes da aplicação de uma resina infiltrante de esmalte, versus a aplicação isolada de uma resina infiltrante.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A proposta de trabalho de projeto final foi primeiramente submetida e aprovada pela Comissão Científica do Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

Posteriormente, o projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz (anexo 1).

A amostra de dentes utilizada neste estudo foi fornecida *pelo Banco de Dentes Humanos da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz*, após a aprovação da *Comissão Científica e da Comissão de Ética* para cedência dos dentes. Todos os dentes foram obtidos de sujeitos anónimos que assinaram um consentimento informado.

2.2. LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado nas instalações do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, nos laboratórios de Biomateriais e de Bioquímica, entre junho e julho de 2017.

A análise dos espécimes, pela Microscopia Eletrónica de Varrimento, foi efetuada no MicroLab, Laboratório de Microscopia Eletrónica no Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa, em julho de 2017.

2.3. DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo um *in vitro*, observacional, analítico e prospetivo em 12 molares humanos intatos. Destes 12 molares foram obtidos 48 fragmentos de esmalte, os quais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de estudo: Grupo A (n=12), Grupo B (n=12), Grupo C (n=12); e um grupo controlo: Grupo D (n=12).

Nos 48 fragmentos foram criadas lesões de cárie artificiais. Posteriormente, as lesões dos grupos de estudo foram submetidas a diferentes tratamentos. O grupo controlo, após a desmineralização, foi apenas conservado em saliva artificial (Fig. 4).

2.4. SELEÇÃO DA AMOSTRA

Doze molares humanos intatos, obtidos de sujeitos anônimos foram preservados, até o seu uso em cloramina T 1% e água destilada a 4°C. Para uma padronização da amostra foram usados critérios de inclusão e de exclusão.

Como critérios de inclusão foram utilizados dentes íntegros, não cariados, livres de fraturas e sem terem alterações de superfícies expostas a tratamentos químicos ou mecânicos, à exceção dos contemplados na higiene dentária dos indivíduos.

Dentes com malformações, não íntegros, que tivessem sido submetidos a tratamentos químicos (branqueamento, entre outros), mecânicos (tratamento ortodôntico prévio, ou outros), ou eletromagnéticos (radiação laser) foram excluídos.

2.5. PREPARAÇÃO E SECÇÃO DOS DENTES

A cada molar foram removidos os restos de tecido orgânico com uma cureta periodontal (Cardoso, C. A. B., De Castilho, A. R. F., Salomão, P. M. A., Costa, E. N., Magalhães, A. C., & Buzalaf, 2014). Foram lavados com água desionizada (Rizvi et al., 2016) e limpos com compressas. Posteriormente, foram armazenados numa solução de cloramina-T a 1% (Fisher Chemical, Fair lawn, NJ, USA) (Kumar, Palamara, Burrow, & Manton, 2016), durante uma semana, e seguidamente foram conservados em água desionizada a 4°C, por não mais de seis meses, segundo a norma ISO/TS 11405:2015.

A partir dos 12 molares obtiveram-se 48 fragmentos de esmalte, de 4x3mm. Para tal utilizou-se o micrótopo de tecidos duros Accutom 50 (Struers A/S, Ballerup, Dinamarca) (Fig. 1) (Rizvi et al., 2016). Cada molar foi colado com cera colante a um suporte de metacrilato (S Paris, Lausch, Selje, & Do, 2014) para a realização dos cortes no micrótopo.



Figura 1. Micrótopo de tecidos duros Accutom 50 (Struers).

Em primeiro lugar, cada dente foi seccionados longitudinalmente no sentido mesio-distal (Elkassas & Arafa, 2014; Rani et al., 2016), obtendo assim, dois fragmentos de cada dente, um vestibular e outro lingual/palatino. Depois, cada um dos fragmentos obtidos foi novamente seccionado, no sentido vestibulo-lingual, em dois fragmentos de 3 mm de largura. Seguidamente, foram decoronados pela junção amelo-cimentária (Cassiano et al., 2017), resultando de cada molar quatro fragmentos de 4x3 mm: fragmento mesio-vestibular, disto-vestibular, mesio-palatino/lingual e disto-palatino/lingual (Fig. 2).

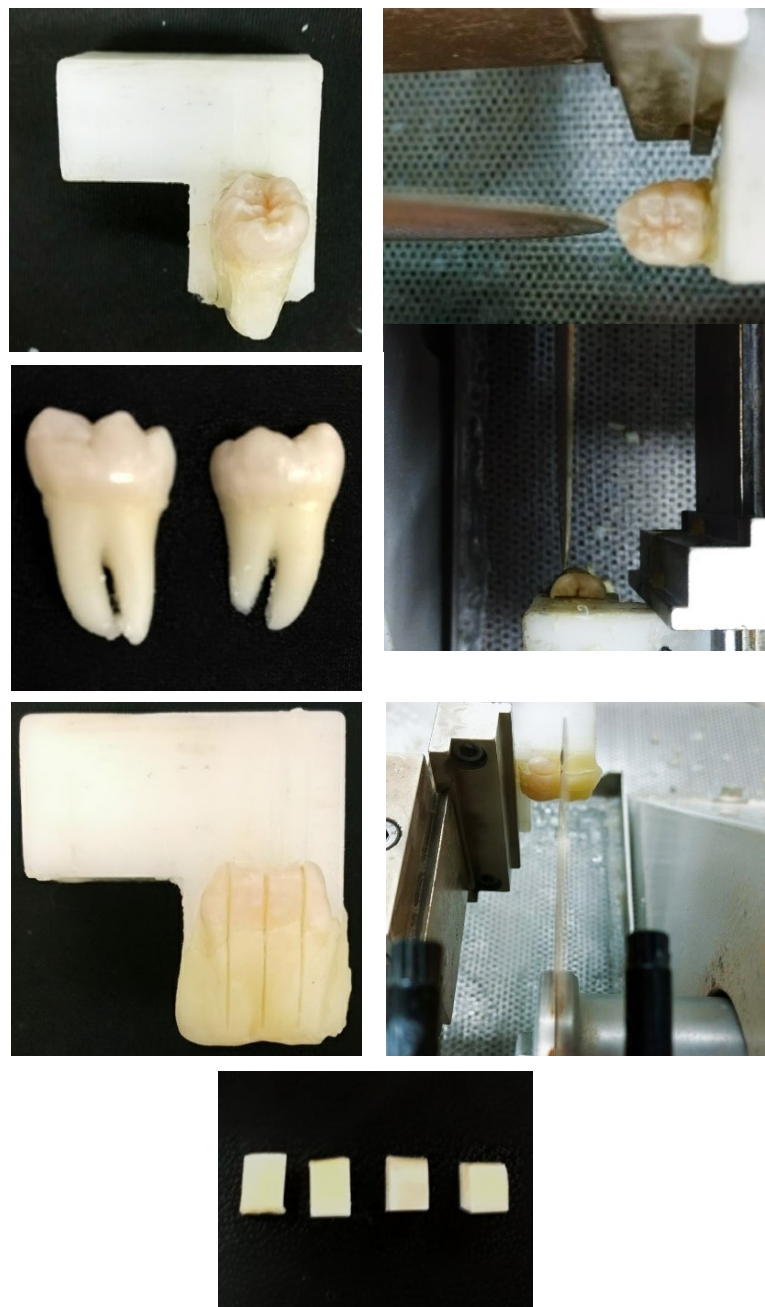


Figura 2. Esquematização do protocolo laboratorial de secção dos dentes.

2.6. POLIMENTO DAS AMOSTRAS

Os espécimes de esmalte obtidos foram alisados e polidos com discos de lixa de granulação 320, 600 e/ou 1200 (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) com refrigeração na máquina polidora LaboPol- 4® (WS Struers 18-B, Dinamarca) a 40 rpm para conseguir uma superfície homogênea (Fig. 3) (Cassiano et al., 2017; Magalhães, Comar, Rios, Delbem, & Buzalaf, 2008).

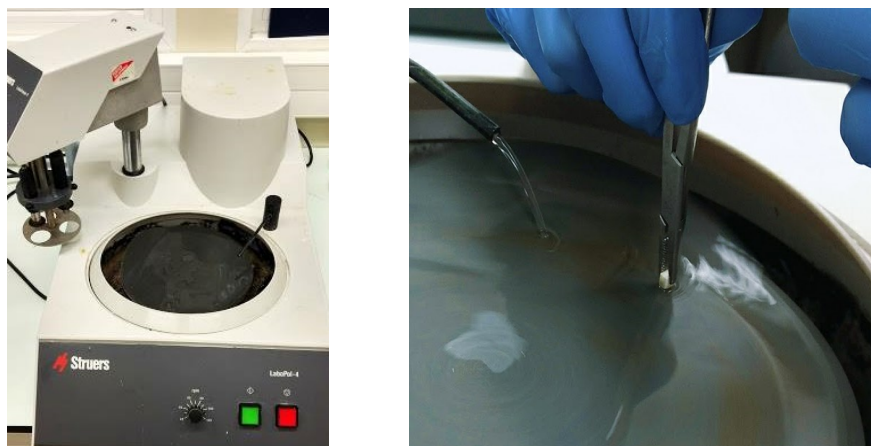


Figura 3. Polimento das amostras em LaboPol- 4® (WS Struers 18-B, Dinamarca).

2.7. ALEATORIZAÇÃO DA AMOSTRA

Os 48 espécimes de 4x3 mm foram aleatoriamente distribuídos em três grupos de estudo (grupos A, B e C) e um grupo controle (grupo D). Cada grupo contou com uma amostra de 12 fragmentos, aleatoriamente alocados pelo software Excel 2010 (Microsoft® Office Excel 1® 2010, Microsoft® Corporation, USA), utilizando a função fx aleatoriamente.

Grupo A (n=12) – Foram simuladas lesões de cárie artificiais, através de uma solução tampão de ácido láctico pH 5.0, durante 6 dias. Aplicou-se, uma vez por dia, durante 4 semanas Recaldent™ CPP-ACP, sendo esta aplicação intercalada com imersão das amostras em saliva artificial numa estufa (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany) a 37°C. Passado este tempo, 10 espécimes foram submetidos ao teste de microdureza de superfície através da técnica de Vickers e 2 espécimes, foram visualizados através de MEV.

Grupo B (n=12) – Foram simuladas lesões de cárie artificiais, através de uma solução tampão de ácido láctico pH 5.0, durante 6 dias. Aplicou-se, como pré-tratamento, uma vez por dia, durante 4 semanas Recaldent™ CPP-ACP, sendo esta aplicação intercalada com imersão das amostras em saliva artificial numa estufa (Memmert INE 400, Memmert, Germany) a 37°C. Seguidamente, no final do pré-tratamento foi realizada uma única aplicação com uma resina infiltrante de esmalte, ICON® (DMG, Germany) sobre a superfície do esmalte. Passado este tempo, 10 Espécimenes foram submetidos a teste de microdureza de superfície através da técnica de Vickers e 2 espécimenes, foram visualizados através de MEV.

Grupo C (n=12) - onde foram simuladas lesões de cárie artificiais, através de uma solução tampão de ácido láctico pH 5.0, durante 6 dias. As amostras mantiveram-se imersas em saliva artificial a 37°C, durante 4 semanas e seguidamente, foi realizada uma única aplicação com uma resina infiltrante de esmalte, ICON® (DMG, Germany) sobre a superfície do esmalte. Passado este tempo, 10 Espécimenes foram submetidas a teste de micro dureza de superfície através da técnica de Vickers e 2 espécimenes, foram visualizados através de MEV.

Grupo D (n=12) - onde foram simuladas lesões de cárie artificiais, através de uma solução tampão de ácido láctico pH 5.0, durante 6 dias. As amostras estiveram imersas em saliva artificial a 37°C, durante 4 semanas. Passado este tempo, 10 espécimenes foram submetidos a teste de microdureza de superfície através da técnica de Vickers e 2 espécimenes, foram visualizados através de MEV

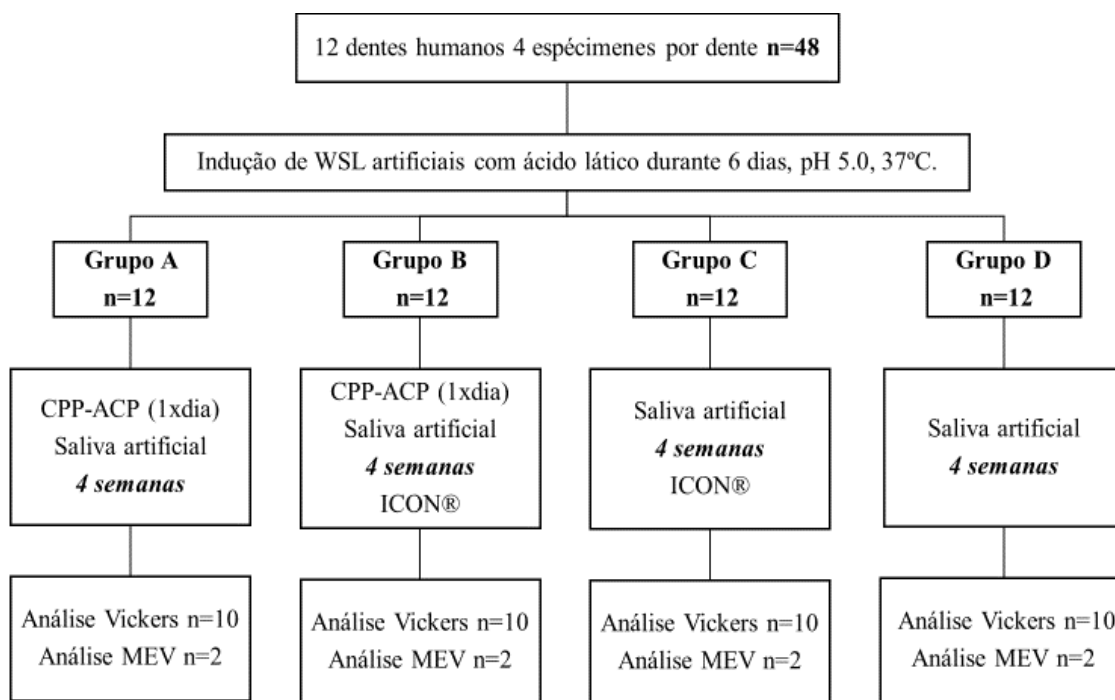


Figura 4. Esquema representativo do protocolo laboratorial.

2.8. INDUÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO SIMULANDO LESÕES DE WHITE SPOT

Foram criadas lesões de cárie artificial no esmalte dos espécimenes por imersão destes, durante 6 dias, em uma solução tampão de ácido láctico de 50 ml a 37°C. Dita solução contem: 50 mM de ácido láctico (Fluka® Analytical, SIGMA – ALDRICH, Co., Espanha, lote: BCBN4919V, 3 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (cloreto de cálcio di-hidratado) (MERCK, Darmstadt, Alemanha, lote: TA853682) e 3 mM KH_2PO_4 (di-hidrogeno fosfato de potássio) (Chem-Lab NV, Zedelgem, Belgica, lote: 12E160020) (Buskes, Christoffersen, & Arends, 1985; Cardoso et al., 2014).

2.9. SALIVA ARTIFICIAL

Utilizou-se uma preparação para simular a saliva humana e o seu poder remineralizador. Esta, contem os seguintes reagentes: 0,005 g de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (sulfureto de sódio nano-hidratado), 0,4 g de NaCl (cloreto de sódio), 0,4 g de KCl (cloreto de potássio), 0,69 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (di-hidrogenofosfato de sódio di-hidratado), 1 g de Ureia, 0,2 g de CaCl_2 (cloreto de cálcio), 1000 mL de água desionizada.

O pH final da solução foi ajustado entre 6.9 e 7.0 de forma a garantir-se uma solução com capacidade remineralizadora (Urban et al., 2009).

2.10. REMINERALIZAÇÃO DAS LESÕES DE ESMALTE NÃO CAVITADAS

Os espécimes dos grupos A e B foram tratados com o agente remineralizante CPP-ACP (GC *Tooth Mousse*, *Recaldent*TM, GC Europe, lote: 160114 M, validade: 01/20018) (Fig. 5). O processo de remineralização foi efetuado aplicando a pasta de CPP-ACP, uma vez por dia, sobre a superfície de esmalte de cada um dos espécimes dos grupos A e B, durante 3 minutos, segundo as instruções do fabricante (Taranath et al., 2014).



Figura 5. Pasta de CPP-ACP (GC Tooth Mousse, RecaldentTM).

2.11. APLICAÇÃO DE RESINA INFILTRANTE, ICON®

Os espécimes dos grupos B e C foram submetidos à aplicação de resina infiltrante, Icon® (DMG, Germany, lote: 76583, validade: 04/2019) sobre a superfície do esmalte (Fig.6). Cada kit contém uma bisnaga de *Icon-Etch* (Ácido clorídrico a 15%), *Icon-Dry* (99% de etanol) e *Icon Infiltrant* (matriz de resina à base de metacrilato, trietilenglicol dimetacrilato (TEGDMA), com iniciadores e aditivos) (Fig. 7) (Min et al., 2015; Tawakoli et al., 2016).

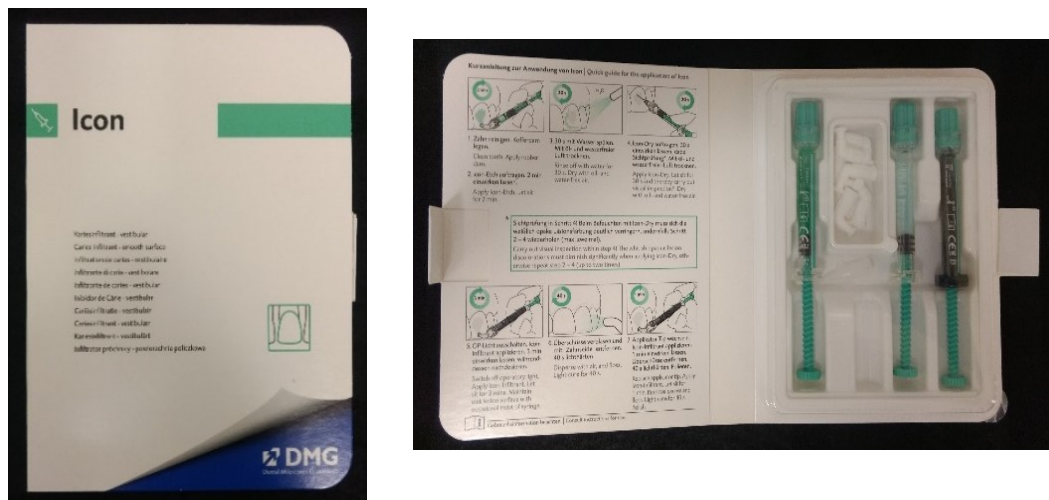


Figura 6. Kit de resina infiltrante ICON® para superfícies vestibulares.



Figura 7. Kit de resina infiltrante ICON®: Icon-Etch, Icon-Dry e Icon-Infiltrant.

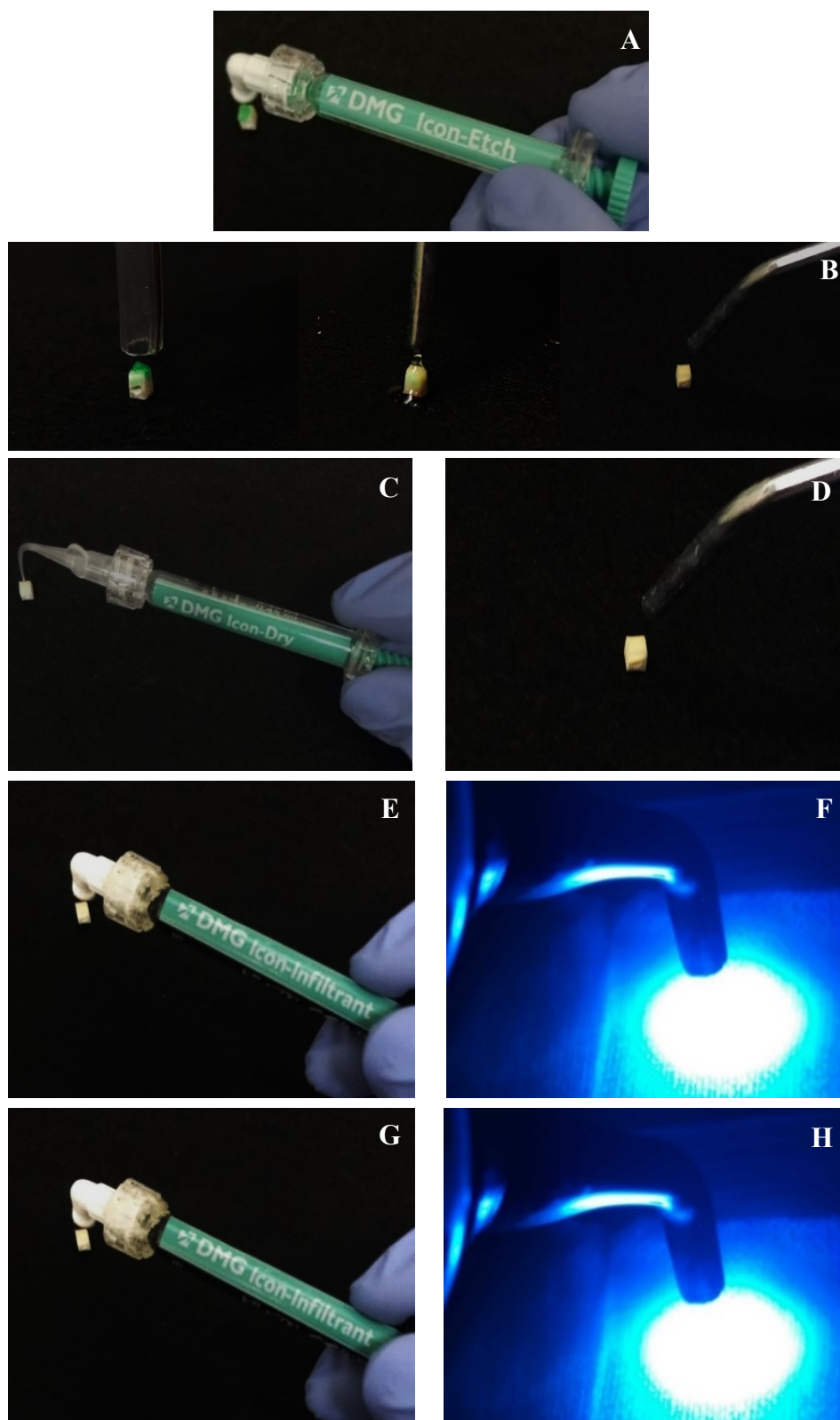


Figura 8. Esquematização do protocolo laboratorial de aplicação da resina infiltrante ICON®. A) Condicionamento ácido com Icon-Etch durante 2 minutos; B) Aspiração, lavagem e secagem; C) Aplicação de Icon-Dry durante 30 segundos; D) Secagem com ar; E) Infiltração da lesão com *Icon-infiltrant* durante 3 minutos; F) Fotopolimerização durante 40 segundos após remoção de excesso com algodão . G) Infiltração da lesão com *Icon-Infiltrant* durante 1 minuto; H) Fotopolimerização durante 40 segundos após remoção de excesso com algodão.

2.12. TESTE MICRODUREZA DE VICKERS

Foi medida a microdureza de Vickers em 10 dos 12 espécimes de cada grupo. Para tal, foi utilizado o indentador *Vickers Hardness Tester* – HSV-30T, Shimadzu Corporation, Japão (Fig. 7). A carga utilizada foi 4,903 N durante 15 segundos (Fig. 8) (Davari, Kazem Danesh, Ataei, Vatanpour, & Abdollahi, 2012; Vyavhare, Sharma, & Kulkarni, 2015).

Foram realizadas 5 indentações na superfície de cada espécime (Fig. 9) (Subramaniam & Telegeti, 2016), obtendo-se um total de 200 medições cujos valores de microdureza foram expressados em HV.



Figura 9. Máquina HSV-30T utilizada para medir a microdureza de Vickers.

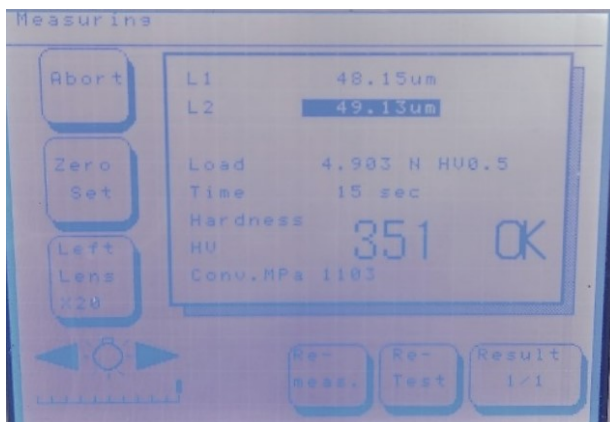


Figura 10. Exemplo de medição de microdureza de Vickers de um espécime.

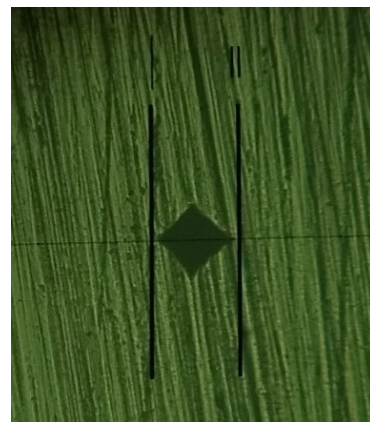


Figura 11. Exemplo de indentação num espécime.

2.13. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (MEV)

Foram observados com o microscópio eletrónico de varrimento JEOL JSM-700001F (Fig. 12) 2 espécimenes de cada grupo. Para tal, previamente, foram recobertos com uma liga de ouro/paládio a 20mA e 1,4kV durante 3 minutos (Fig. 11).



Figura 12. Microscópio eletrónico de varrimento JEOL JSM-700001F.



Figura 13. 2 espécimes de cada grupo cobertas por liga ouro/paládio para MEV.

2.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram tratados estatisticamente recorrendo ao software IBM® SPSS®, *Statistical Package for Social Sciences*, versão 24.0, para *Microsoft Windows*.

Foi realizada uma análise dos valores de microdureza obtidos pelo teste de microdureza de Vickers. Analisaram-se as medidas descritivas e foi aplicado o teste

paramétrico ANOVA a um fator aos diferentes grupos, com um nível de confiança de 95%. Para se efetuar o teste ANOVA confirmou-se previamente a normalidade das amostras, pelo teste de *Saphiro-Wilk*, e a homogeneidade de variâncias, pelo do teste Levene.

Os pares de amostras foram comparados recorrendo a testes *post-hoc*, especificamente ao teste Bonferroni e a testes de contraste.

3. RESULTADOS

3.1. TESTE DE MICRODUREZA DE VICKERS

As medidas descritivas dos diferentes grupos, como o número de espécimenes (N), a média, o desvio padrão, o limite superior e o limite inferior, encontram-se representadas na tabela 3 e figura 14.

O grupo A, cujas amostras foram tratadas com CPP-ACP e mantidas em saliva artificial, foi o grupo que apresentou os valores de microdureza de superfície mais elevados com $292,80 \pm 25,55$ HV.

O grupo B, no qual foi aplicado CPP-ACP como pré-tratamento da lesão, saliva artificial para manter os espécimes e ICON®, apresentou valores de microdureza de $273,18 \pm 19,91$ HV.

O grupo C, cujas amostras foram mantidas em saliva artificial até a aplicação de ICON®, apresentou valores de microdureza de $240,24 \pm 20,46$ HV.

No grupo D, grupo controlo, cujas amostras apenas foram mantidas em saliva artificial, os valores obtidos foram $212,26 \pm 28,42$ HV, sendo estes os valores de microdureza de superfície mais baixos.

Tabela 3. Medidas descritivas dos diferentes grupos.

Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Intervalo de confiança de 95% para média	
				Limite inferior	Limite superior
A	10	292,8	25,55395	274,5198	311,0802
B	10	273,18	19,91704	258,9322	287,4278
C	10	240,24	20,46282	225,6018	254,8782
D	10	212,26	28,42785	191,9239	232,5961

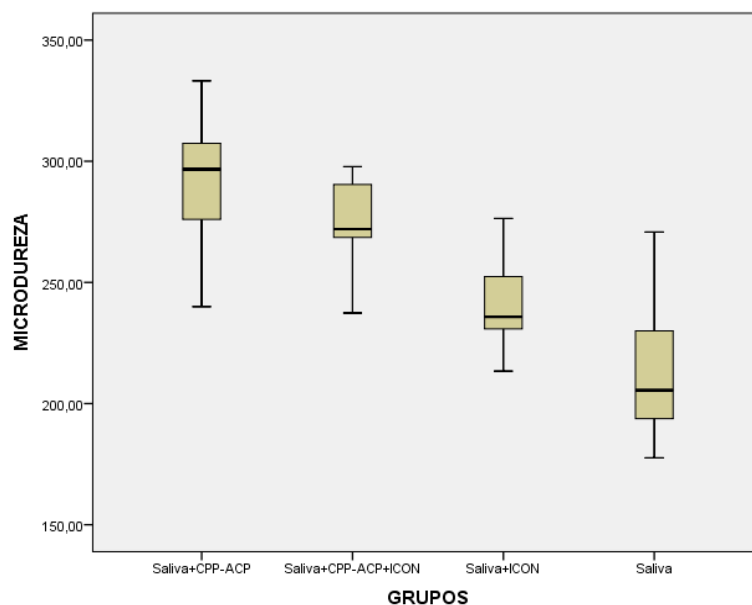


Figura 14. Diagrama de caixas das medidas descritivas dos diferentes grupos.

Para a aplicação do teste paramétrico ANOVA, verificou-se, previamente, que as amostras eram independentes, normais e as variâncias homogêneas. A independência das amostras foi assegurada pelos processos de recolha e aleatorização da distribuição em grupos-amostra (cf. capítulo 2.7). Para avaliar a normalidade das amostras, aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk, o mais apropriado para amostras pequenas, tendo-se verificado que todos os grupos apresentavam valores de significância superiores a 0,05 ($p > 0,05$) (tabela 4). Estes resultados permitiram assumir, com um nível de confiança de 95%, a normalidade das amostras A-D.

Tabela 4. Resultados do teste de normalidade Shapiro-Wilk (output da análise estatística com programa SPSS).

MICRODUREZA	GRUPOS	Shapiro-Wilk		
		Estatística	gl	Sig.
	A	,944	10	,598
	B	,924	10	,396
	C	,942	10	,573
	D	,923	10	,383

*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

A homogeneidade das variâncias foi avaliada com recurso ao teste Levene (tabela 5), o qual revelou que as variâncias não diferem significativamente entre os grupos, dado que o nível de significância é superior a 0,05 ($p > 0,05$). Estes resultados confirmam que as variâncias são homogêneas.

Tabela 5. Resultados do teste de homogeneidade de variâncias de Levene (output da análise estatística com programa SPSS).

Teste de Homogeneidade de Variâncias				
MICRODUREZA				
Estatística de Levene	gl1	gl2	Sig.	
,660	3	36	,582	

Confirmados os pressupostos para a aplicação do teste ANOVA a um fator, prosseguiu-se com esta análise para avaliar a existência de diferenças entre os quatro grupos de estudo. Para tal, formularam-se duas hipóteses:

- H_0 : as médias dos grupos não diferem estatisticamente.
- H_1 : as médias dos grupos diferem estatisticamente.

Tabela 6. Resultados do teste paramétrico ANOVA a um fator. (output da análise estatística com programa SPSS).

ANOVA					
MICRODUREZA					
	Soma dos Quadrados	gl	Quadrado Médio	F	Sig.
Entre Grupos	38033,400	3	12677,800	22,275	,000
Nos grupos	20489,064	36	569,141		
Total	58522,464	39			

De acordo com a tabela 6, as amostras originaram um valor F de 22,275 e uma significância de 0,000 ($F(3,36) = 22,275$; $p < 0,01$), de onde se conclui que existem diferenças entre as amostras. Rejeitou-se a hipótese nula e aceitou-se a hipótese alternativa.

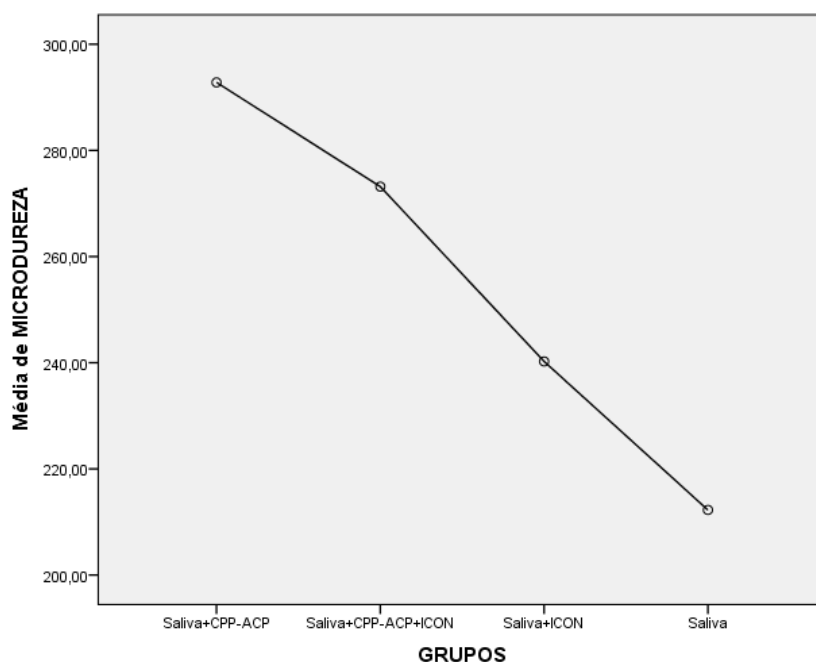


Figura 15. Representação gráfica da média de cada grupo obtida a partir do teste de ANOVA a um fator.

Uma vez que foram detetadas diferenças, aplicou-se um teste de comparação múltipla, que permite comparar pares de amostras. Para o efeito, recorreu-se aos testes *post-hoc* de Bonferroni, o qual é indicado para amostras pequenas. Este teste considera a diferença média significativa quando o valor *p* é inferior a 0,05 (Tabela 7).

Tabela 7. Resultados do teste de comparação múltipla (*post-hoc*): Teste de Bonferroni.

Comparações múltiplas						
Variável dependente: MICRODUREZA						
Bonferroni						
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
A	B	19,62000	10,66903	,445	-10,1676	49,4076
	C	52,56000*	10,66903	,000	22,7724	82,3476
	D	80,54000*	10,66903	,000	50,7524	110,3276
B	A	-19,62000	10,66903	,445	-49,4076	10,1676
	C	32,94000*	10,66903	,023	3,1524	62,7276
	D	60,92000*	10,66903	,000	31,1324	90,7076
C	A	-52,56000*	10,66903	,000	-82,3476	-22,7724
	B	-32,94000*	10,66903	,023	-62,7276	-3,1524
	D	27,98000	10,66903	,076	-1,8076	57,7676
D	A	-80,54000*	10,66903	,000	-110,3276	-50,7524
	B	-60,92000*	10,66903	,000	-90,7076	-31,1324
	C	-27,98000	10,66903	,076	-57,7676	1,8076

*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

Os resultados deste teste, presentes na tabela 7, indicam que:

- A média do grupo A não difere significativamente ($p=0,445$) da do grupo B. Estatisticamente podemos afirmar, com uma confiança de 95%, que $\bar{u}_A=\bar{u}_B$.
- A média do grupo C não difere significativamente ($p=0,076$) da do grupo D. Estatisticamente podemos afirmar, com uma confiança de 95%, que $\bar{u}_C=\bar{u}_D$.
- Existem diferenças significativas ($p=0,023$) entre as médias de microdureza de Vickers dos grupos B e C. Estatisticamente podemos afirmar, com uma confiança de 95%, que $\bar{u}_B\neq\bar{u}_C$.

Para confirmar os resultados obtidos com o teste descrito anteriormente foi aplicado um teste de contrastes, que permite comparar grupos específicos. Este teste, ao igual que o anterior, considera, a diferença média significativa quando o p-valeu é inferior a 0,05 (Tabela 8).

Tabela 8. Resultados do teste de contraste.

	Contraste	Valor de contraste	Significância (<i>p-valeu</i>)
Considera variâncias iguais	A vs B	19,62	0,074
	C vs D	27,98	0,013
	B vs C	32,94	0,004

O teste de contraste corrobora que:

- Não existem diferenças significativas ($p=0,74$) entre as médias de microdureza de Vickers dos grupos A e B.
- Existem diferenças significativas ($p=0,004$) entre as médias de microdureza de Vickers dos grupos B e C.

Porém, ao contrário dos resultados do teste Bonferroni, o teste contraste indica que:

- Existem diferenças significativas ($p=0,013$) entre as médias de microdureza de Vickers dos grupos C e D.

Assim o resultado do teste paramétrico ANOVA a um fator (Tabela 6), os testes de comparação de médias entre os grupos de estudo - teste de Bonferroni de comparações múltiplas (Tabela 7) e teste de contrastes (Tabela 8) e os valores médios de microdureza obtidos para cada grupo (Tabela 3), indicam que, estatisticamente e com um intervalo de confiança de 95%, $\bar{u}_A = \bar{u}_B > \bar{u}_C \geq \bar{u}_D$.

3.2. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (MEV)

Foram observados dois espécimes por grupo com cinco ampliações diferentes: x250, x1000, x5000, x10000 e x30000.

As imagens seleccionadas encontram-se nas seguintes figuras (Fig. 16-35).

Grupo A

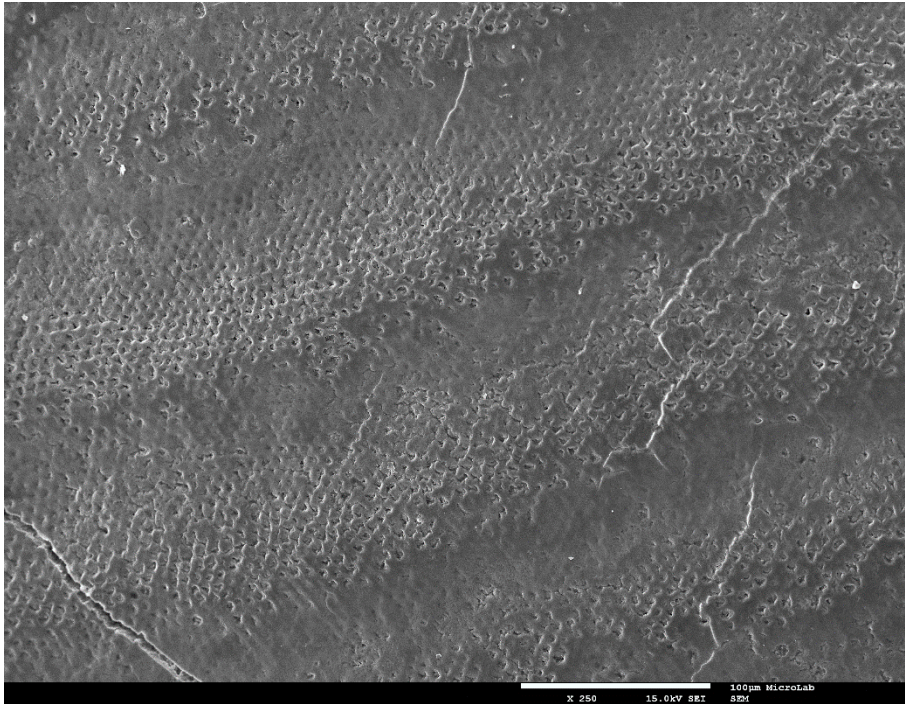


Figura 16. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250, após indução de lesão artificial de *white spot* e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observam-se fraturas de tensão por desidratação.

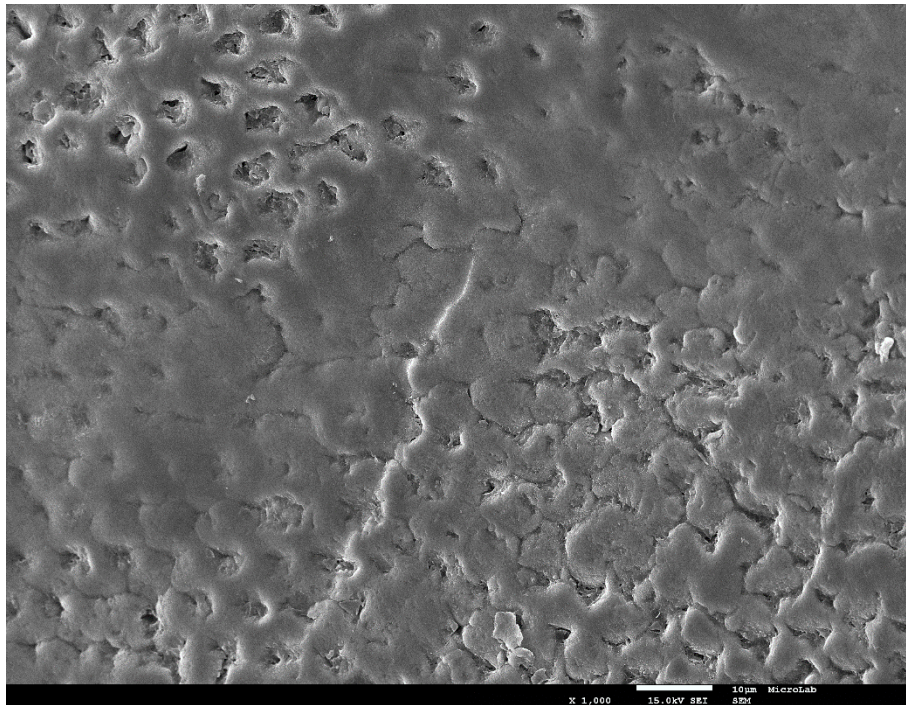


Figura 17. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000, após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se oclusão interprismática compatível com a remineralização.

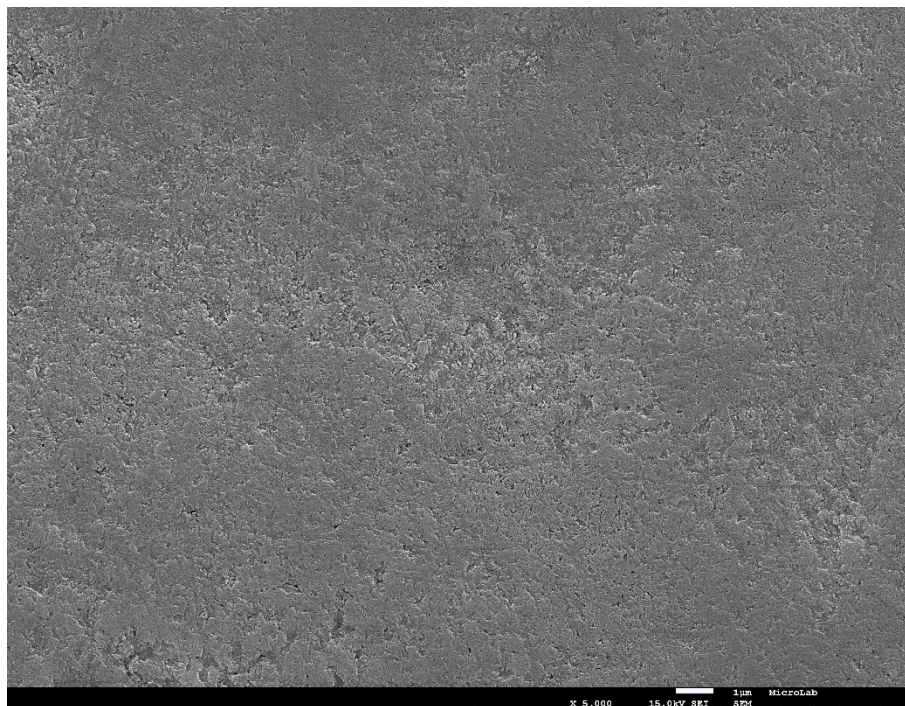


Figura 18. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se uma superfície homogênea compatível com uma superfície remineralizada.

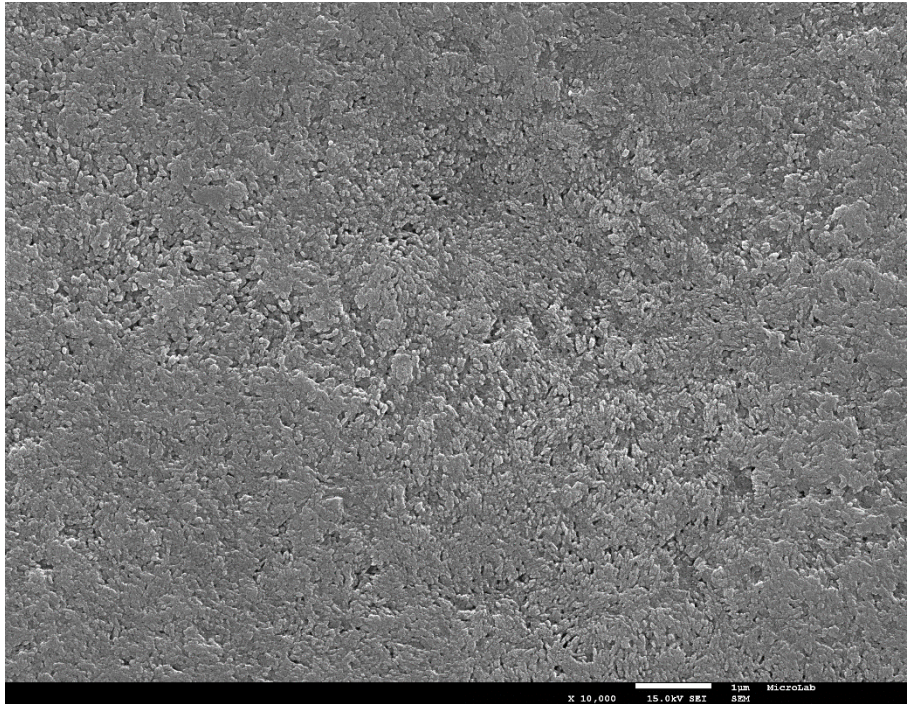


Figura 19. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se uma superfície homogênea e zonas com depósitos de cálcio e fosfato procedentes do CPP-ACP.

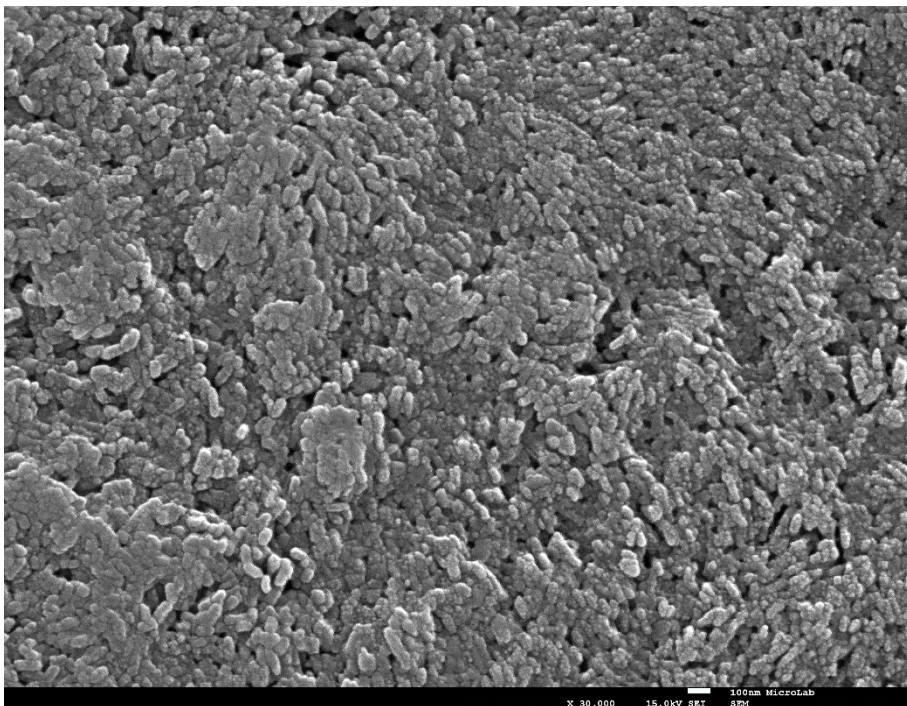


Figura 20. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot e tratamento com pasta de CPP-ACP. Observa-se uma superfície homogênea e organizada, cujos prismas de esmalte encontram-se ocluídos pelos depósitos de CPP-ACP.

Grupo B

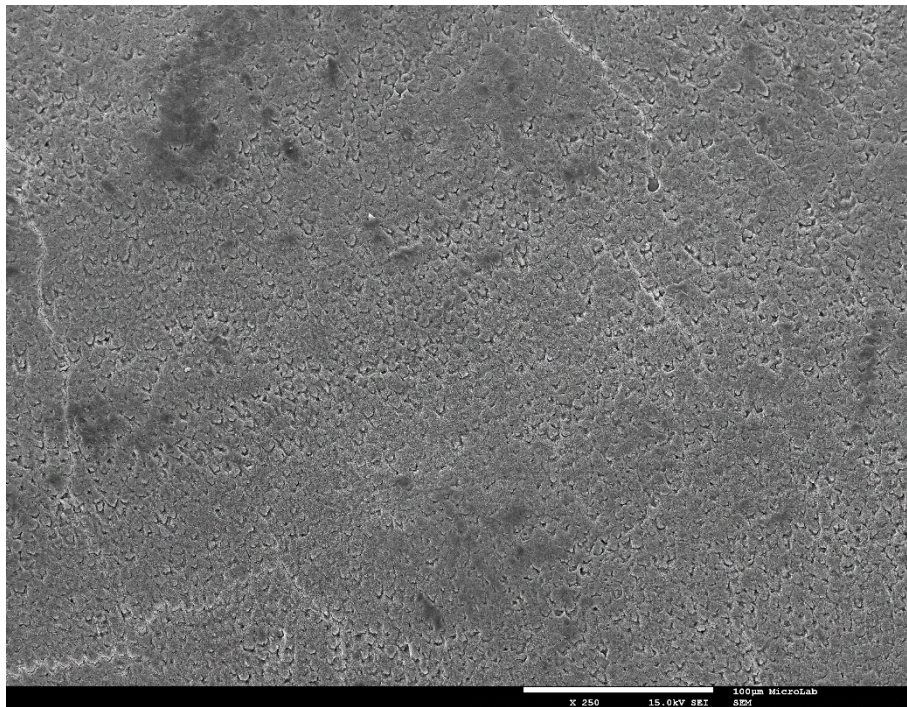


Figura 21. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®.

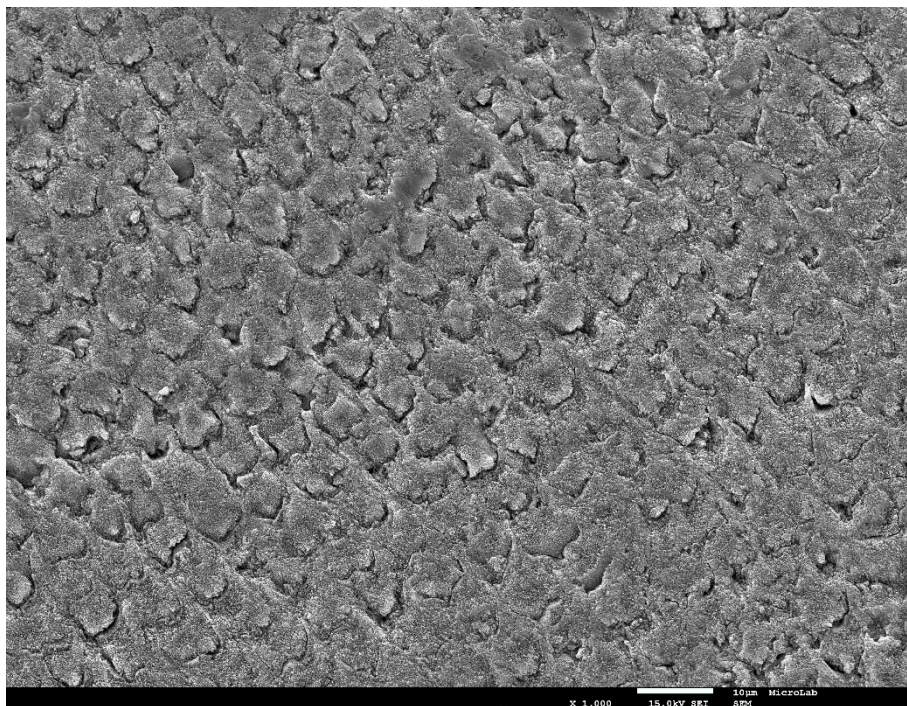


Figura 22. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e uma posterior aplicação de ICON®. Os primas de esmalte encontram-se menos ocluídos que na imagem correspondente do Grupo A.

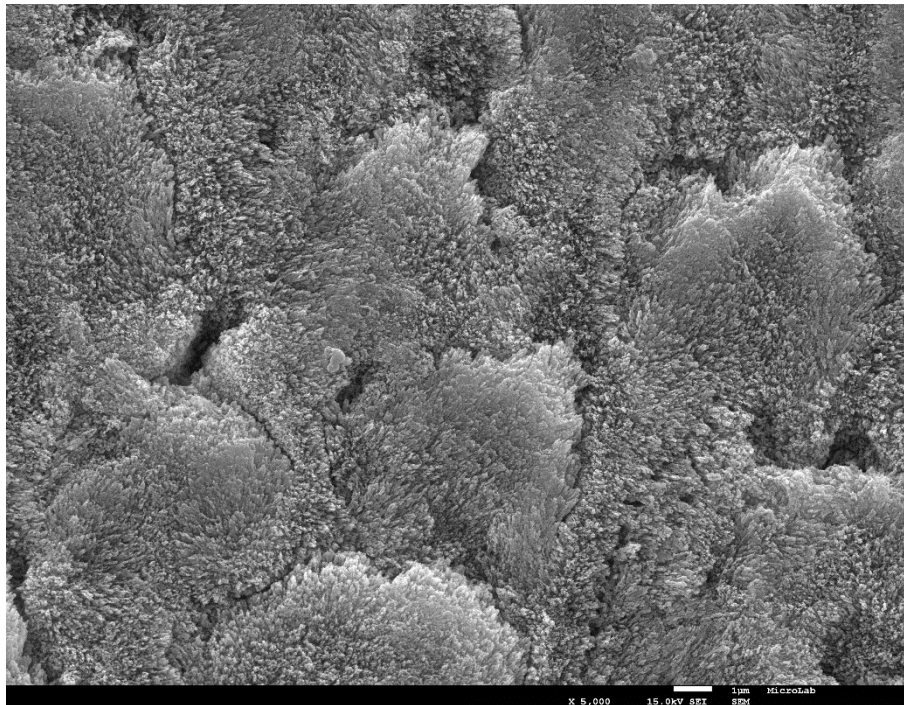


Figura 23. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®. A superfície apresenta um aspeto menos homogêneo, conseguem-se observar depósitos de aglomerados de CPP-ACP.

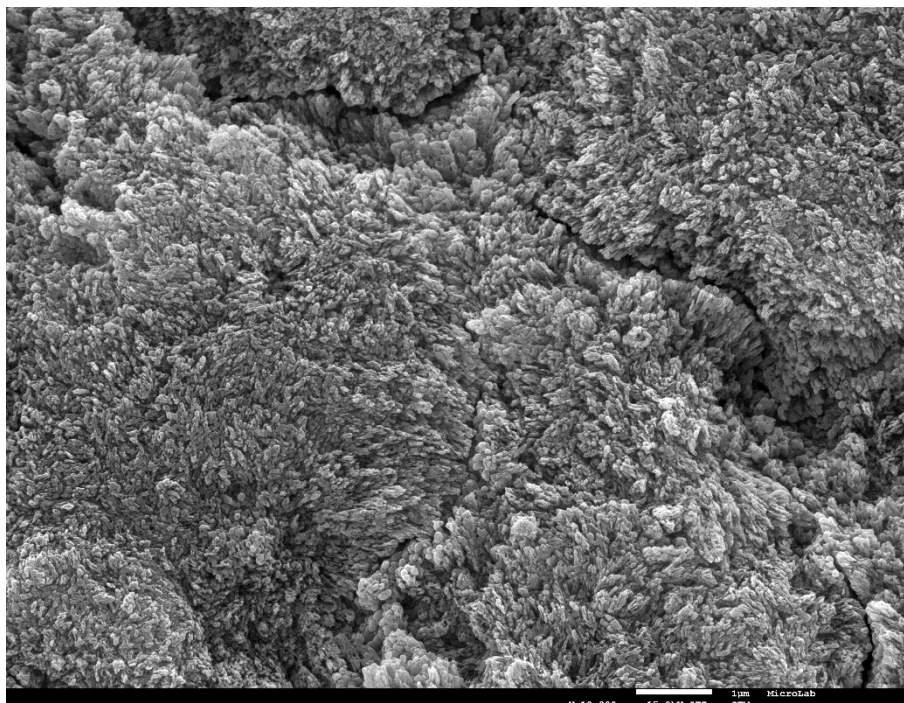


Figura 24. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®. A remineralização não é homogênea. Observam-se algumas lacunas e depósitos de CPP-ACP.

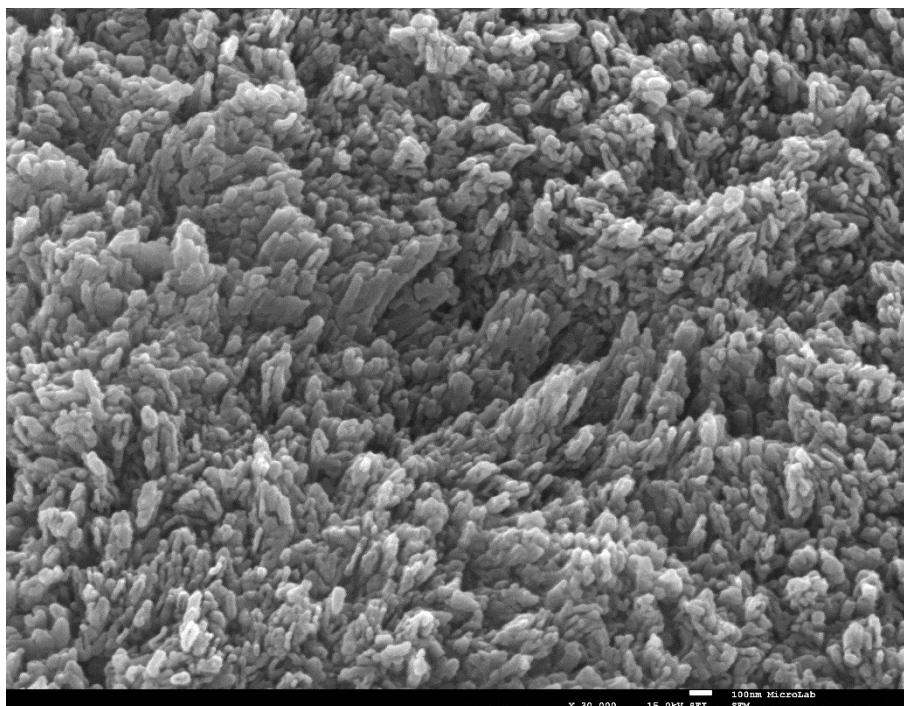


Figura 25. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot, pré-tratamento com pasta de CPP-ACP e posterior aplicação de ICON®. A superfície apresenta um aspeto menos homogêneo, conseguem-se observar depósitos de cálcio e fosfato procedentes do CPP-ACP.

Grupo C

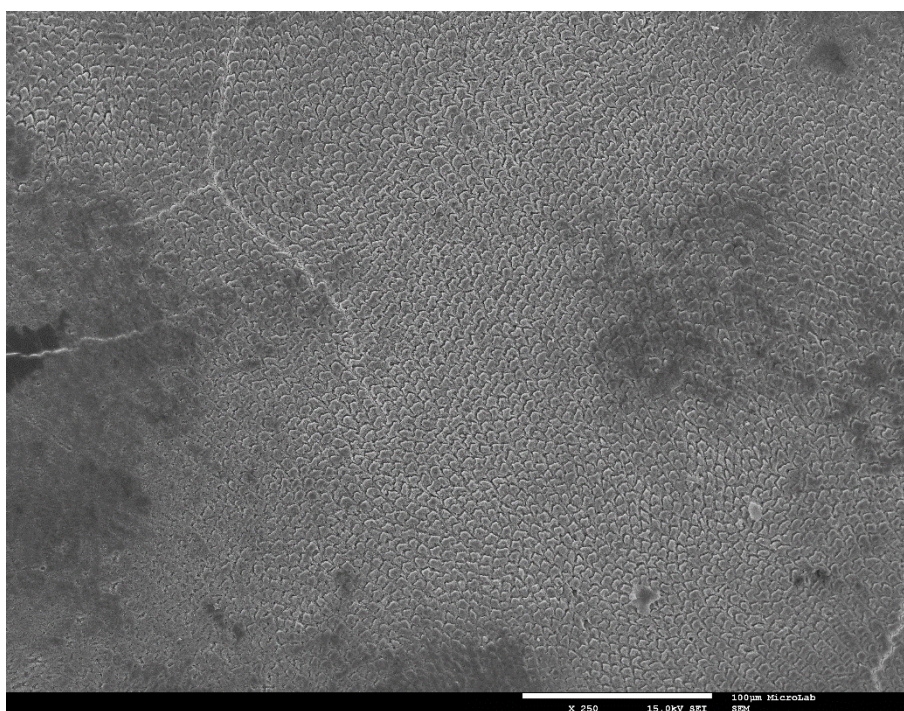


Figura 26. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Observam-se algumas fraturas de esmalte por desidratação.

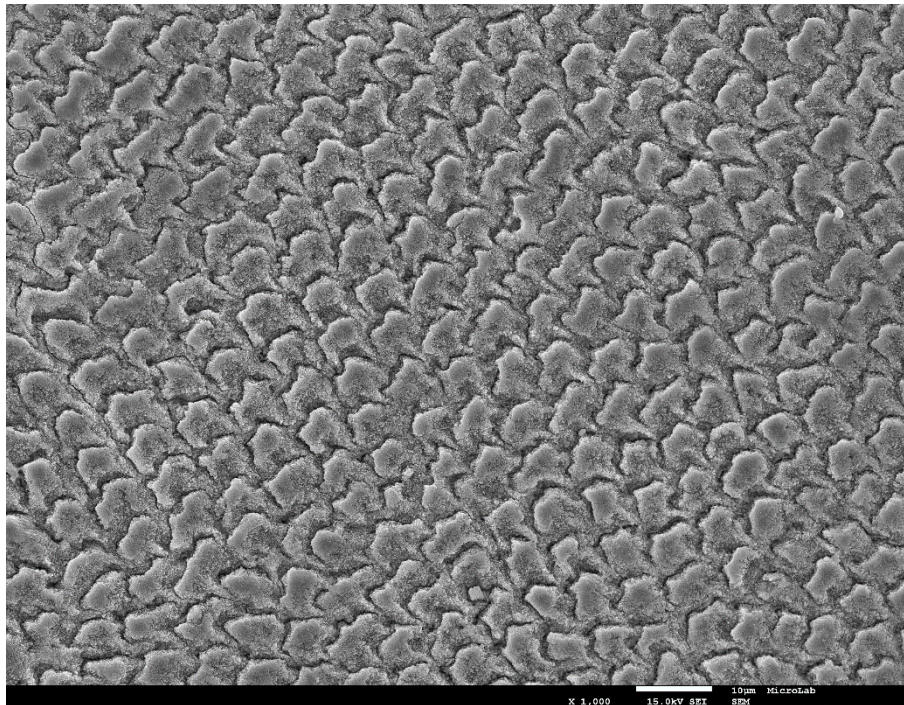


Figura 27. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000 após indução de lesão artificial de white spot e uma posterior aplicação de ICON®. Observa-se perfeitamente a estrutura em favo de mel característica do esmalte maturo.

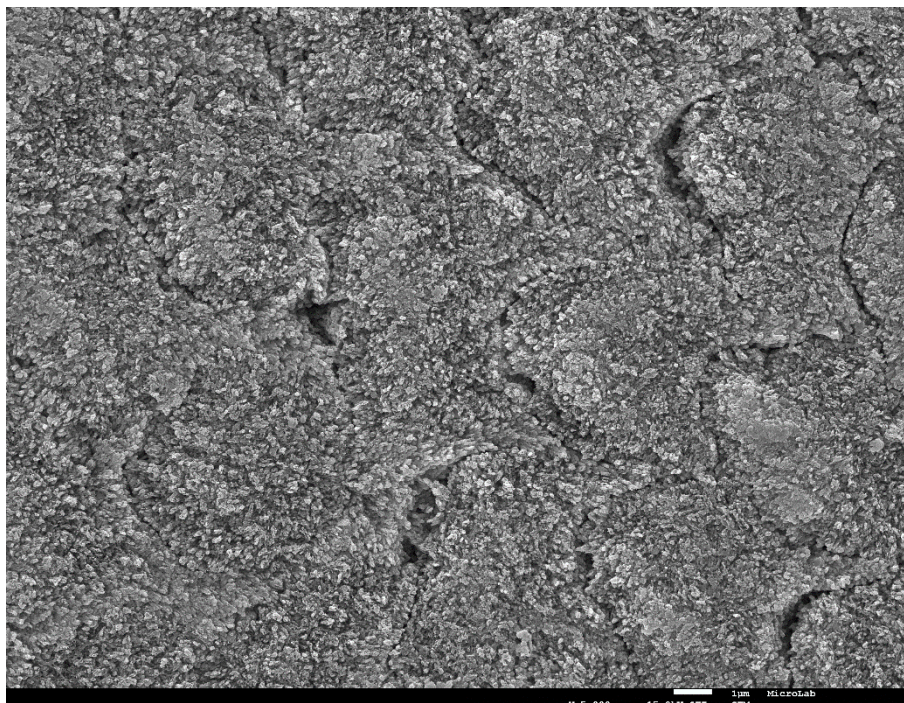


Figura 28. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Imagem de aspeto mais heterogêneo. Observam-se pequenas zonas de remineralização dispersas e oclusão interprismática.

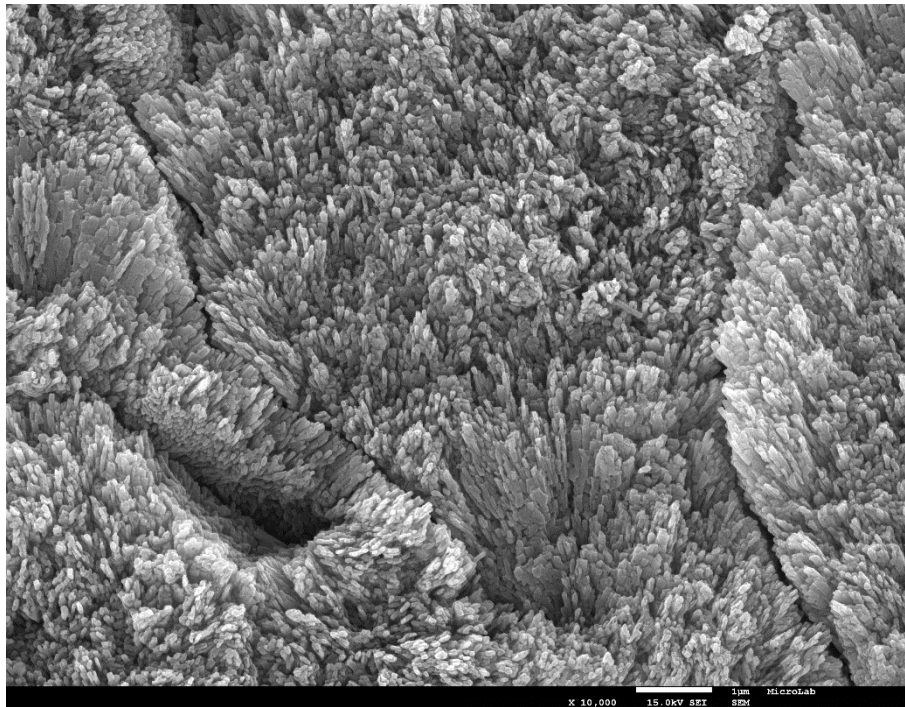


Figura 29. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Imagem com aspeto heterogéneo. Observam-se prismas de esmalte mais definidos.

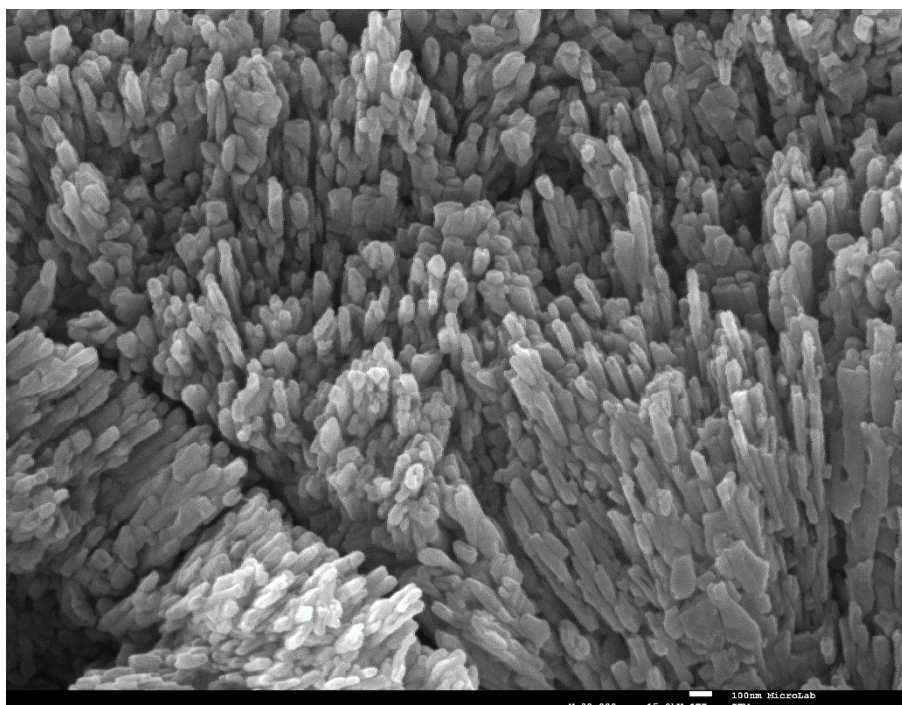


Figura 30. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot e posterior aplicação de ICON®. Observa-se oclusão interprismática embora a superfície apresente um aspeto mais heterogéneo. Os prismas de esmalte estão mais definidos nesta imagem do que nas imagens correspondentes aos grupos anteriores. Isto é devido a uma menor remineralização.

Grupo D



Figura 31. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x250 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial.

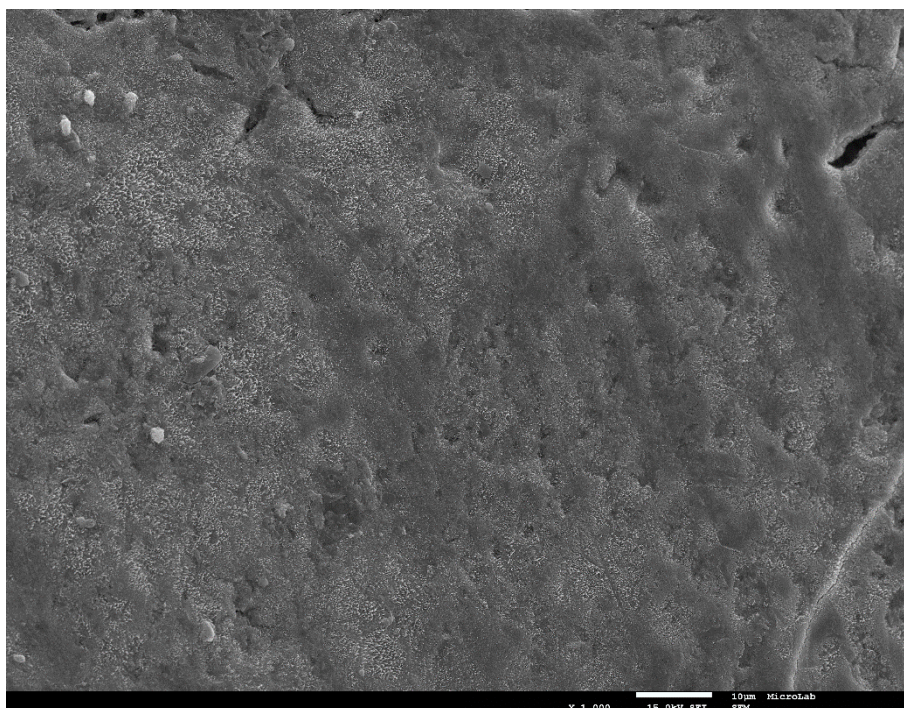


Figura 32. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x1000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. Observam-se alguns depósitos minerais superficiais compatíveis com zonas remineralizadas.

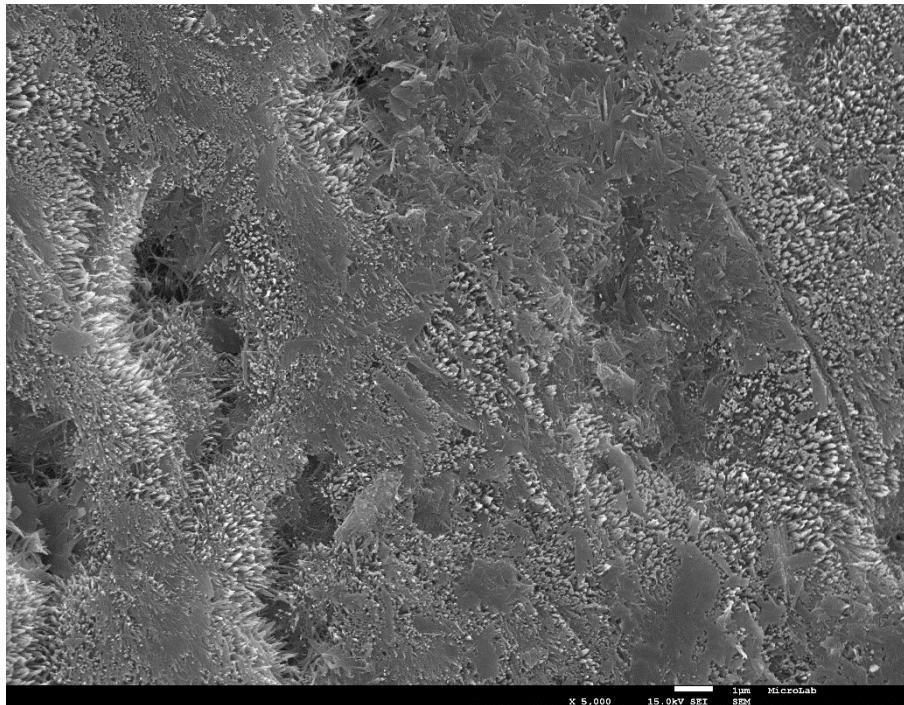


Figura 33. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x5000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. Observa-se uma superfície desorganizada e heterogênea. Predomina a desmineralização, mas também conseguimos observar zonas remineralizadas.

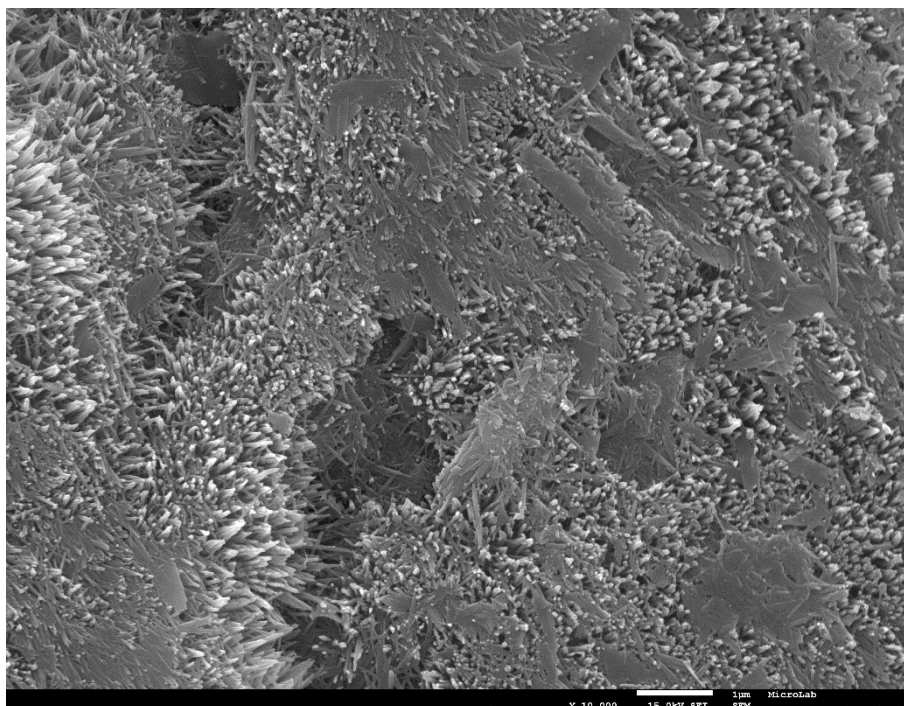


Figura 34. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x10000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. Observa-se uma superfície desorganizada e heterogênea, com cristais de HA dispostos em diferentes orientações. Observam-se lacunas compatíveis com zonas desmineralizadas. Apreciam-se também zonas superficiais remineralizadas, devido à ação da saliva.

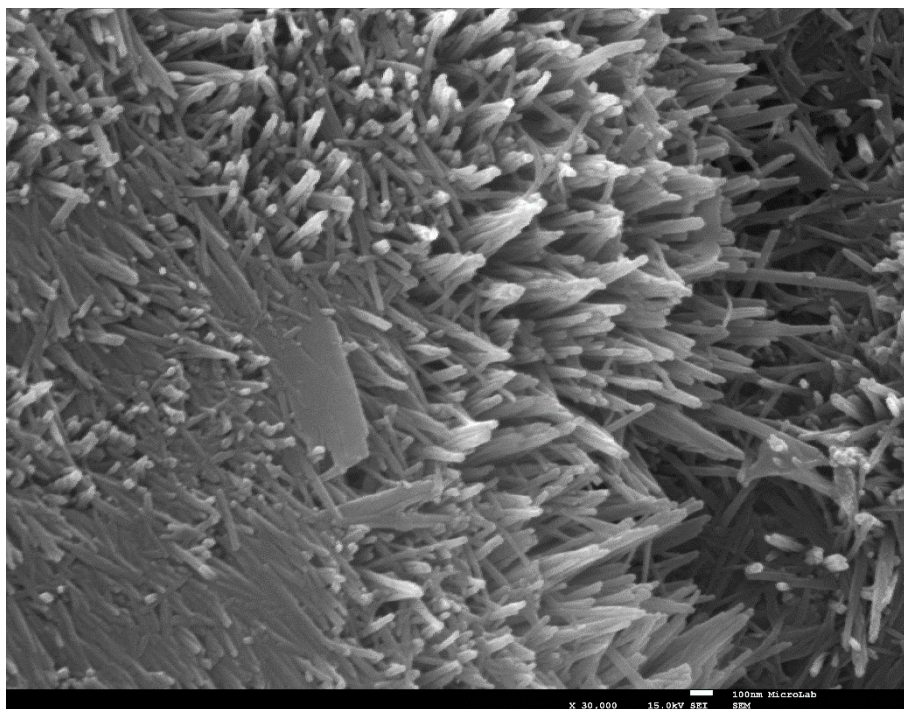
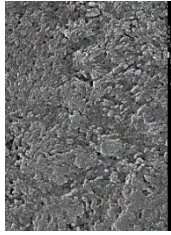
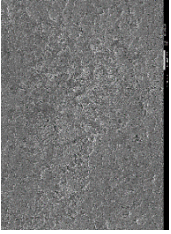

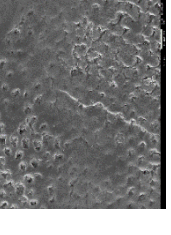
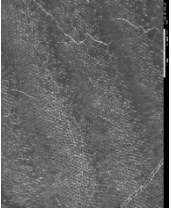
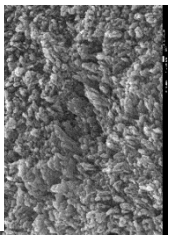
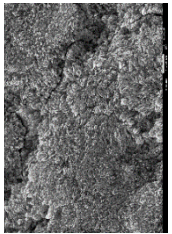
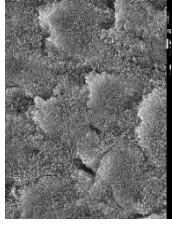
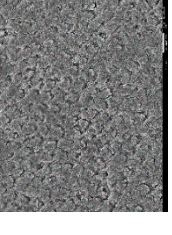
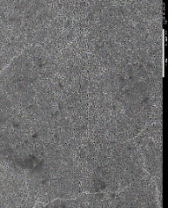
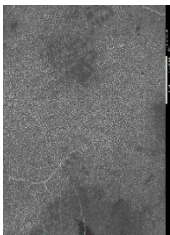
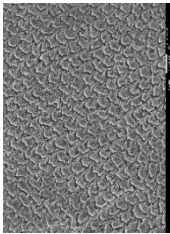
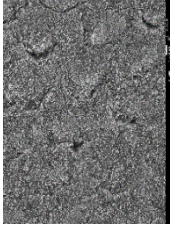
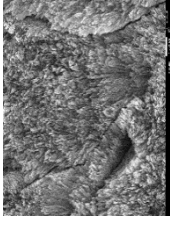
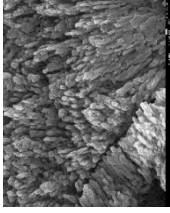
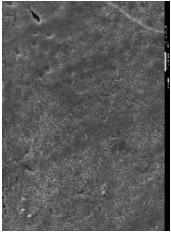
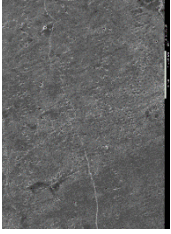
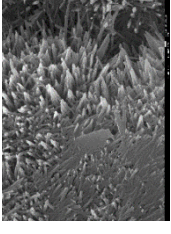
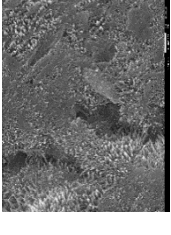
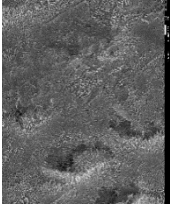


Figura 35. Fotomicrografia sobre a superfície do esmalte a x30000 após indução de lesão artificial de white spot e conservação em saliva artificial. É evidente a desorganização da superfície de esmalte. Os prismas de HA e a substância interprismática apresentam diferentes orientações.

Tabela 9. Esquema das imagens obtidas por MEV nas diferentes ampliações observadas.

Grupo A (x250; x1000; x5000; x10000; x30000)								
Grupo B (x250; x1000; x5000; x10000; x30000)								
Grupo C (x250; x1000; x5000; x10000; x30000)								
Grupo D (x250; x1000; x5000; x10000; x30000)								

4. DISCUSSÃO

Atualmente existem diferentes opções terapêuticas para tratar as lesões de cárie não cavitadas e prevenir a sua evolução. A primeira linha de tratamento é a remineralização destas lesões (Arslan et al., 2015). No entanto, outros tratamentos minimamente invasivos, como a aplicação de resinas infiltrantes de esmalte, podem complementar o efeito dos agentes remineralizadores (Paula et al., 2017).

A perda mineral da estrutura dentária, característica da desmineralização do esmalte, reflete-se nas suas propriedades mecânicas (Abdelaziz et al., 2016). Posto isto, o presente estudo teve como propósito quantificar a microdureza de superfície de esmalte, além de qualificar microscopicamente a sua superfície, quando se aplica um pré-tratamento à base de CPP-ACP, antes da aplicação de uma resina infiltrante de esmalte, e quando se realiza uma aplicação isolada de um dos produtos anteriormente mencionados. Para tal recorreu-se ao teste de microdureza de Vickers e a análise dos espécimes por MEV.

4.1. TESTE DE MICRODUREZA DE VICKERS

Através do indentador de Vickers podemos quantificar a microdureza de superfície de forma simples e rápida sem destruir a superfície a ser medida. Este método é adequado para avaliar alterações na superfície de esmalte durante o processo de cárie (Rani et al., 2016).

Para a obtenção de valores precisos de microdureza, os espécimes foram previamente polidos de maneira a obter uma superfície plana. O polimento da superfície a ser medida permite-nos também padronizar a amostra do estudo (Elkassas & Arafa, 2014).

Os resultados obtidos demonstraram que existem diferenças significativas na microdureza do esmalte quando se aplica um pré-tratamento à base de CPP-ACP, antes da aplicação de uma resina infiltrante (grupo B), ou quando não se aplica este agente remineralizador como pré-tratamento (grupo C), em espécimes com lesões de cáries artificiais.

O grupo D (grupo controlo), no qual os espécimes desmineralizados não sofreram nenhum tratamento e apenas foram mantidos em saliva artificial, apresentou como valor médio de microdureza $212,26 \pm 28,42$ HV.

A saliva natural, saturada com cálcio e fosfato, remineraliza e protege os tecidos dentários da desmineralização (Heshmat, Ganjkar, Miri, & Fard, 2016). Com o intuito de reproduzir as características da cavidade oral, os espécimes de cada grupo foram mantidos em saliva artificial durante 4 semanas, período durante o qual foram submetidos aos diferentes tratamentos.

O grupo A, cujas amostras foram tratadas com CPP-ACP e mantidas em saliva artificial, apresentou uma microdureza média de $292,80 \pm 25,55$ HV. No grupo B aplicou-se CPP-ACP como pré-tratamento e saliva artificial para manter os espécimes, seguido de uma aplicação de resina infiltrante de esmalte ICON®. A média dos valores de microdureza obtidos para este grupo foi $273,18 \pm 19,91$ HV.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de microdureza de Vickers dos grupos A e B, mas ambos apresentaram valores de microdureza maiores que os do grupo D (grupo controlo) e que os do grupo C, no qual apenas foi aplicado resina infiltrante sem o pré-tratamento da lesão com CPP-ACP. Em concordância com outros estudos podemos afirmar que o agente remineralizador CPP-ACP, ao se ligar à superfície dentária, contribui para o aumento do conteúdo mineral do esmalte desmineralizado, aumentando, por conseguinte, a sua microdureza (Bayram et al., 2017; Rani et al., 2016). Segundo Li, o CPP-ACP apresenta um efeito remineralizador a longo prazo em lesões de cárie incipientes (J. Li et al., 2014). Embora alguns estudos defendam que o CPP-ACP é um potente remineralizador (Reynolds, 2008), outros concluem que este parece ser menos eficiente na remineralização de lesões de cárie quando comparado com produtos fluoretados (Hendrik Meyer-lueckel et al., 2015; Vyavhare et al., 2015). Comparando o potencial remineralizador do CPP-ACP com o da saliva, estudos anteriores demonstraram que o CPP-ACP tem maior efeito remineralizador e uma ação mais rápida do que a saliva artificial (Elkassas & Arafa, 2014; Rizvi et al., 2016).

O grupo C, no qual os espécimes foram mantidos em saliva artificial durante 4 semanas e posteriormente foram submetidos a uma aplicação de resina infiltrante ICON®, apresentou uma dureza média de $240,24 \pm 20,46$ HV. Tendo em conta os resultados dos testes de comparação múltipla, podemos afirmar que a microdureza de esmalte a quando da aplicação da resina infiltrante ICON® em lesões de esmalte não

cavidades não diminui, quando comparada com a microdureza de esmalte em lesões incipientes não tratadas. Segundo os resultados do presente estudo, a resina infiltrante ICON® aumenta ligeiramente ou mantém a microdureza de superfície de esmalte. No entanto, outros estudos publicados, demonstraram que a resina infiltrante aumenta significativamente a microdureza de esmalte quando comparado com lesões de cárie incipientes não tratadas (S Paris, Schwendicke, Seddig, et al., 2013).

A aplicação de resina infiltrante, melhora as propriedades mecânicas do esmalte desmineralizado ao substituir a perda mineral das porosidades, características dos WSL, por resina fotopolimerizável de baixa viscosidade (Abdelaziz et al., 2016). Paris et al. (2013) estudaram o efeito da resina infiltrante ICON® na microdureza do esmalte humano, previamente desmineralizado. Os resultados deste estudo demonstraram que a resina infiltrante aumenta a microdureza do esmalte e diminui a progressão da lesão, quando são realizadas duas aplicações desta. Duas aplicações de resina infiltrante, como indicam as instruções do fabricante, compensa a contração de polimerização, característica das resinas, e garante a oclusão das porosidades que persistem no corpo da lesão (Kim et al., 2011).

No presente estudo o agente remineralizador CPP-ACP foi mais eficiente no aumento da microdureza de esmalte do que a resina infiltrante. No entanto, outro estudo realizado em 2015, que comparou a resina infiltrante ICON® com um verniz de flúor, que é outro agente remineralizador, concluiu que a microdureza de superfície de esmalte foi maior no grupo tratado com ICON®. Segundo o estudo, este facto deve-se ao poder de penetração da resina, que infiltra o corpo e superfície da lesão ocluindo as porosidades de esmalte desmineralizado (Arslan et al., 2015).

4.2. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (MEV)

Através do microscópio eletrónico de varrimento conseguem-se observar alterações produzidas por diferentes agentes na superfície do esmalte dentário (Elkassas & Arafa, 2014).

Após a observação dos espécimes do presente estudo por MEV, podemos afirmar que existem diferenças qualitativas na superfície de esmalte quando se aplica um pré-tratamento à base de CPP-ACP antes da aplicação de uma resina infiltrante, ou quando não se aplica este agente remineralizador como pré-tratamento.

Nas imagens referentes ao grupo D (grupo controlo), cujos espécimenes, após a indução de WSL, foram mantidos em saliva artificial sem sofrer nenhum tratamento, observa-se desorganização na disposição dos prismas, característica do esmalte desmineralizado. Neste grupo é notória a exposição dos cristais de HA. A imagem com maior ampliação deste grupo (Fig. 35), apresenta uma disposição topográfica. Nas camadas mais superficiais observam-se depósitos de minerais, procedentes da saliva artificial, na qual os espécimenes foram mantidos. Observam-se também porosidades, características da desmineralização do esmalte (Abdullah & John, 2016; Elkassas & Arafa, 2014) que aumentam com avançar da profundidade da lesão. Estes poros aparecem como espaços e lacunas.

As fotomicrografias correspondentes ao grupo A, no qual foi aplicado CPP-ACP, apresentam uma superfície homogénea. Os prismas de esmalte encontram-se ocluídos por depósitos de cálcio e fosfato. Isto deve-se à remineralização produzida pelo CPP-ACP (Sugiura et al., 2016). Estas imagens são compatíveis com as imagens obtidas noutras investigações, nas quais também foram aplicados agentes remineralizadores (Elkassas & Arafa, 2014).

No grupo B, no qual aplicou-se CPP-ACP e ICON® observam-se imagens com um aspeto menos homogéneo do que o grupo anterior. É notória a disposição de depósitos de minerais, cálcio e fosfato, procedentes do CPP-ACP e da saliva artificial. No entanto, podemos observar que os prismas de esmalte estão algo expostos.

A maior parte do conteúdo mineral que os agentes remineralizadores, como o CPP-ACP, aportam deposita-se na camada superficial do esmalte (Abdelaziz et al., 2016; Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016). As imagens correspondentes a este grupo sugerem que a erosão da camada superficial, pela aplicação do *Icon-Etch* (H Cl 15%), não foi suficiente para eliminar completamente os minerais que ocluem as porosidades dos WSL, comprometendo provavelmente a penetração da resina infiltrante. O tempo curto de tratamento, aquando da aplicação de resina infiltrante, comparado com a aplicação de agentes fluoretados, requiere que as porosidades do esmalte desmineralizado estejam completamente expostas, para a resina infiltrante aceder ao corpo da lesão (H Meyer-lueckel, Paris, & Kielbassa, 2007). Tendo isto em conta sugerem-se futuros estudos que comparem diferentes concentrações e/ou aplicações de *Icon-Etch* em WSL previamente remineralizados (Sebastian Paris & Meyer-lueckel, 2016).

As imagens referentes ao grupo C, no qual os espécimenes foram mantidos em saliva artificial durante 4 semanas e posteriormente foram submetidos a uma aplicação

de resina infiltrante ICON®, apresentam um aspeto mais heterogéneo. Embora os prismas de esmalte estejam mais definidos, tal como em outros estudos, é notória a oclusão interprismática devida à ação da resina infiltrante (Arslan et al., 2015; Malek, Alkhamis, & Mesha, 2012). Observam-se, nas camadas mais superficiais, depósitos minerais procedentes da saliva artificial.

As propriedades mecânicas do esmalte são dependentes da sua estrutura e composição. Ao aumentar a concentração de cálcio no esmalte, aumenta a sua microdureza (Zhang et al., 2014). Deste modo, podemos relacionar a análise da microdureza do esmalte com as imagens da MEV. O grupo A, que apresentou os valores mais elevados de microdureza de Vickers, foi o grupo no qual foi observada uma superfície mais homogénea, devido aos depósitos de cálcio e fosfato.

4.3. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo apresenta limitações ao ser um estudo *in vitro*. Tendo em conta que a doença de cárie é um processo multifatorial, é de extrema dificuldade simular os diferentes fatores que influenciam este processo.

No presente estudo simularam-se condições patológicas e fisiológicas da cavidade oral; como o processo de desmineralização simulando WSL ou o potencial remineralizador da saliva, neste caso artificial. Simulou-se também a temperatura da cavidade oral, mantendo os espécimes numa estufa a 37°C. Neste tipo de estudos, as condições não são idênticas às da cavidade oral, o que é um fator a ter em conta a quando da interpretação dos resultados.

A utilização de saliva artificial, e o polimento dos espécimes a serem medidos no indentador de Vickers são outras das limitações do estudo.

No grupo B, foi aplicada a resina infiltrante ICON® em lesões previamente remineralizadas. Este tipo de lesões apresentam uma camada superficial altamente mineralizada, pelo que a aplicação de *Icon-Etch* durante dois minutos, recomendada pelo fabricante, pode não ser suficiente para a erosão desta camada.

Posto isto, sugerem-se futuros estudos que comparem diferentes concentrações e/ou aplicações de *Icon-Etch* em WSL previamente remineralizados. Ao mesmo tempo seria interessante perceber a profundidade de penetração da resina infiltrante e avaliar a estabilidade a longo prazo destas.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos e tendo em conta as limitações do estudo, é possível concluir que:

- A quando da aplicação de CPP-ACP, como pré-tratamento, e uma posterior aplicação de resina infiltrante, a microdureza de superfície aumenta significativamente se comparada com uma aplicação isolada de resina infiltrante.
- A quando da aplicação de CPP-ACP, como pré-tratamento, e uma posterior aplicação de resina infiltrante, a microdureza de superfície aumenta significativamente se comparada com lesões de cárie artificiais não tratadas. No entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quando comparado com a aplicação isolada de CPP-ACP em lesões de cáries induzidas artificialmente.
- A quando da combinação de CPP-ACP com resina infiltrante, observaram-se alterações qualitativas no esmalte. Porém, microscopicamente, o CPP-ACP, aplicado por separado, mostrou ser o agente com maior capacidade para ocluir as porosidades do esmalte desmineralizado, sugerindo uma maior capacidade de aumentar a dureza de superfície.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abdelaziz, M., Lodi Rizzini, A., Bortolotto, T., Tomasso Tocca, G., Feilzer, A. J., García-Godoy, F., & Krejci, I. (2016). Comparing different enamel pretreatment options for resin-infiltration of natural non-cavitated carious lesions. *American Journal of Dentistry*, 29(1), 3–9.
- Abdullah, Z., & John, J. (2016). Minimally invasive treatment of white spot lesions – a systematic review. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 14(3), 197–205. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a35745>
- Ahovuo-Saloranta, Forss, H., Hiiri, A., Nordblad, A., & Mäkelä, M. (2016). Pit and fissure sealants versus fluoride varnishes for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. *Cochrane Library*, (1). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003067.pub3>
- Arslan, S., Zorba, Y. O., Atalay, M. A., Özcan, S., Demirbuga, S., & Pala, K. (2015). Effect of resin infiltration on enamel surface properties and streptococcus mutans adhesion to artificial enamel lesions. *Dental Materials*, 34(1), 25–30. <https://doi.org/10.4012/dmj.2014-078>
- Askar, H., Lausch, J., Do, C. E., Meyer-lueckel, H., & Paris, S. (2015). Penetration of micro-filled infiltrant resins into artificial caries lesions. *Journal of Dentistry*, 43, 832–838. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.03.002>
- Azizi, Z. (2015). Management of white spot lesions using resin infiltration technique : a review. *Open Journal of Dentistry and Oral Medicine*, 3(1), 1–6. <https://doi.org/10.13189/ojdom.2015.030101>
- Bader, J. D., Shugars, D. A., & Bonito, A. J. (2001). Systematic reviews of selected dental caries diagnostic and management methods. *Journal of Dental Education*, 65(10), 960–968.
- Bayram, M., Kusgoz, A., Yesilyurt, C., & Nur, M. (2017). Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate application after interproximal stripping on enamel surface: An in-vivo study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 151(1), 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2016.06.033>
- Borges, A. B., Caneppele, T. M. F., Masterson, D., & Maia, L. C. (2017). Is resin infiltration an effective esthetic treatment for enamel development defects and white spot lesions? A systematic review. *Journal of Dentistry*, 56, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.10.010>
- Cardoso, C. A. B., De Castilho, A. R. F., Salomão, P. M. A., Costa, E. N., Magalhães, A. C., & Buzalaf, M. A. R. (2014). Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in vitro. *Journal of Dentistry*, 42(11), 1495–1501. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.08.009>
- Cassiano, L., Biology, O., Pessan, J., Cardoso, C., Dionisio, A., Manarelli, M., ... Buzalaf, M. (2017). Frequency of intake and amount of fluoride in milk for remineralisation of artificial caries on enamel and dentine : Ex vivo / in situ study. *Archives of Oral Biology*, 73, 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.10.005>
- Coelho, A., Macho, V., Ferreira, M., & Carrilho, E. (2014). Treatment of white spot lesions by resin infiltration. *Annual Research & Review in Biology*, 4(24), 3970–3979.
- Davari, A., Kazem Danesh, A., Ataei, E., Vatanpour, M., & Abdollahi, H. (2012). Effects of bleaching and remineralising agents on the surface hardness of enamel. *J Dent*

- Shiraz Univ Med Scien*, 13(4), 156–163.
- Elkassas, D., & Arafa, A. (2014). Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *Journal of Dentistry*, 42(4), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.12.017>
- Featherstone, J. D. B. (2004). The continuum of dental caries — evidence for a dynamic disease process. *Journal of Dental Research*, 83(3), C39–C42.
- Featherstone, J. D. B. (2008). Dental caries : a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53, 286–291. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x>
- Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries : consequences for oral health care. *Caries Research*, 38, 182–191. <https://doi.org/10.1159/000077753>
- Fejerskov, O., Nyvad, B., & Kidd, E. (2015). *Caries: The disease and its clinical management*. (Wiley-Blackwell, Ed.) (3a Edição).
- Fincham, A. G., Moradian-Oldak, & Simmer, J. P. (1999). The structural biology of the developing dental enamel matrix. *Journal of Structural Biology*, 126, 270–299.
- Gwinnett, A. (1992). Structure and composition of enamel. *Operative Dentistry*, 5, 10–17.
- Habelitz, S., Marshall, S. J., Jr, G. W. M., & Balooch, M. (2001). Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Archives of Oral Biology*, 46, 173–183.
- He, L. H., & Swain, M. V. (2007). Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1(2008), 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2007.05.001>
- Helwig, E., & Lennon, M. (2004). Systemic versus topical fluoride. *Caries Research*, 38, 258–262. <https://doi.org/10.1159/000077764>
- Heshmat, H., Ganjkar, M. H., Miri, Y., & Fard, M. J. K. (2016). The effect of two remineralizing agents and natural saliva on bleached enamel hardness. *Dental Research Journal*, 13(1), 52–57.
- Ismail, A. I., Sohn, W., Tellez, M., Amaya, A., Sen, A., Hasson, H., & Pitts, N. (2007). The international caries detection and assessment system (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 35(1), 170–178. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2007.00347x>
- Jarjoura, K., Gagnon, G., & Nieberg, L. (2006). Caries risk after interproximal enamel reduction. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 130, 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2004.08.024>
- Kim, S., Kim, E., Jeong, T., & Kim, J. (2011). The evaluation of resin infiltration for masking labial enamel white spot lesions. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 21, 241–248. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2011.01126.x>
- Knösel, M., Eckstein, A., & Helms, H.-J. (2013). Durability of esthetic improvement following Icon resin infiltration of multibracket-induced white spot lesions compared with no therapy over 6 months: A single-center, split-mouth, randomized clinical trial. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 144(1), 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2013.02.029>
- Kumar, H., Palamara, J. E. A., Burrow, M. F., & Manton, D. J. (2016). An investigation into the effect of a resin infiltrant on the micromechanical properties of hypomineralised enamel. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 1–13. <https://doi.org/10.1111/ipd.12272>
- Lacruz, R., Habelitz, S., Wright, J., & Paine, M. (2017). Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiological Reviews*, 97, 939–993.

- <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>
- Lausch, J., Askar, H., Paris, S., & Meyer-lueckel, H. (2017). Micro-filled resin infiltration of fissure caries lesions in vitro. *Journal of Dentistry*, 57, 73–76. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.12.010>
- Lee, J., Chen, J.-W., Omar, S., Know, S., & Meharry, M. (2016). Evaluation of stain penetration by beverages in demineralized enamel treated with resin infiltration. *Operative Dentistry*, 41(1), 93–102. <https://doi.org/10.2341/13-259-L>
- Li, J., Xie, X., Wang, Y., Yin, W., Antoun, J. S., Farella, M., & Mei, L. (2014). Long-term remineralizing effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on early caries lesions in vivo : A systematic review. *Journal of Dentistry*, 42(7), 769–777. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.03.015>
- Li, X., Wang, J., Joiner, A., & Chang, J. (2014). The remineralisation of enamel : a review of the literature. *Journal of Dentistry*, 42, S12–S20. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(14\)50003-6](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(14)50003-6)
- Lippert, F., & Lynch, R. J. M. (2014). Comparison of Knoop and Vickers surface microhardness and transverse microradiography for the study of early caries lesion formation in human and bovine enamel. *Archives of Oral Biology*, 59(7), 704–710. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.04.005>
- Magalhães, A. C., Comar, L. P., Rios, D., Delbem, A. C. B., & Buzalaf, M. A. R. (2008). Effect of a 4 % titanium tetrafluoride (TiF 4) varnish on demineralisation and remineralisation of bovine enamel in vitro. *Journal of Dentistry*, 36, 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2007.12.001>
- Malek, N., Alkhamis, H. A., & Mesha, S. (2012). The influence of resin infiltration system on enamel microhardness and surface roughness : An in vitro study. *The Saudi Dental Journal*, 24(2), 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2011.10.003>
- Memarpour, M., Fakhraei, E., Dadaein, S., & Vossoughi, M. (2015). Efficacy of fluoride varnish and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate for remineralization of primary teeth : a randomized clinical trial. *Medical Principles and Practice*, 24, 231–237. <https://doi.org/10.1159/000379750>
- Meyer-lueckel, H., Paris, S., & Kielbassa, A. M. (2007). Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Research*, 41, 223–230. <https://doi.org/10.1159/000099323>
- Meyer-lueckel, H., Wierichs, R. J., Schellwien, T., & Paris, S. (2015). Remineralizing efficacy of a CPP-ACP cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Research*, 49, 56–62. <https://doi.org/10.1159/000363073>
- Min, J. H., Inaba, D., Kwon, H. K., Chung, J. H., & Kim, B. I. (2015). Evaluation of penetration effect of resin infiltrant using optical coherence tomography. *Journal of Dentistry*, 43(6), 720–725. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.03.006>
- Mohammed, N. R., Lynch, R. J. M., & Anderson, P. (2013). Effects of fluoride concentration on enamel demineralization kinetics in vitro. *Journal of Dentistry*, 42(5), 613–618. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.12.005>
- Nyvad, B., Machiulskienec, V., & Baelumb, V. (1999). Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. *Caries Research*, 33, 252–260.
- Paris, S., Lausch, J., Selje, T., & Do, C. E. (2014). Comparison of sealant and infiltrant penetration into pit and fissure caries lesions in vitro. *Journal of Dentistry*, 42, 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.01.006>
- Paris, S., & Meyer-lueckel, H. (2012). The potential for resin infiltration technique in dental practice. *Dental Update*, 39, 623–628.
- Paris, S., & Meyer-lueckel, H. (2016). Resin infiltration after enamel etching. In J.

- Perdigão (Ed.), *Tooth whitening: an evidence-based perspective* (pp. 211–222). Minneapolis, USA. https://doi.org/10.1007/978-3-319-38849-6_10
- Paris, S., Schwendicke, F., Keltsch, J., Dörfer, C., & Meyer-lueckel, H. (2013). Masking of white spot lesions by resin infiltration in vitro. *Journal of Color and Appearance in Dentistry*, 41s, e28–e34. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.04.003>
- Paris, S., Schwendicke, F., Seddig, S., & Mu, W. (2013). Micro-hardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins : Influence of infiltrant composition and application frequency in vitro. *Jornal of Dentistry*, 1, 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.03.006>
- Paula, A. B. P., Fernandes, A. R., Coelho, A. S., Marto, C. M., Ferreira, M. M., Caramelo, F., ... Carrilho, E. (2017). Therapies for white spot lesions- a systematic review. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 17(1), 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2016.10.003>
- Pitts, N. B. (2004a). Are we ready to move from operative to non-operative / preventive treatment of dental caries in clinical practice ? *Caries Research*, 38, 294–304. <https://doi.org/10.1159/000077769>
- Pitts, N. B. (2004b). Modern concepts of caries measurement. *Journal of Dental Research*, 83, C43–c47. <https://doi.org/10.1177/154405910408301S09>
- Pitts, N. B., & Ekstrand, K. R. (2013). International caries detection and assessment system (ICDAS) and its international caries classification and management system (ICCMS) – methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 41, e41–e52. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12025>
- Rani, S. T., Manjula, M., Reddy, E. R., Vinaykumar, L., Mohan, T. A., & Sowmya, B. (2016). Evaluation of remineralizing potential of calcium sucrose Phosphate and CPP-ACP : an in vitro study. *Pediatric Dental Journal*, 26, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.pdj.2016.07.002>
- Reynolds, E. C. (2008). Calcium phosphate-based remineralization systems : scientific evidence ? *Australian Dental Journal*, 53, 268–273. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00061.x>
- Rizvi, A., Zafar, M. S., Wasifi, Y. Al, Fareed, W., Khurshid, Z., & Zafar, C. M. S. (2016). Role of enamel deminerlization and remineralization on microtensile bond strength of resin composite. *European Journal of Dentistry*, 10(3), 376–380. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.184167>
- Robinson, C., Shore, R. C., Brookes, S. J., Strafford, S., Wood, S. R., & Kirkham, J. (2000). The chemistry of enamel caries. *Critical Review in Oral Biology & Medicine*, 11(4), 481–495.
- Sala, E. C., & García, P. B. (2013). *Odontología preventiva y comunitaria - Principios, Métodos y Aplicaciones*. (Elsevier, Ed.) (4ª Edição).
- Selwitz, R. H., Ismail, A. I., & Pitts, N. B. (2007). Dental caries. *Lancet*, 369, 51–59.
- Sfalcin, R. A., Correr, A. B., Morbidelli, L. R., Gabrielle, T., Araújo, F., Feitosa, V. P., ... Watson, T. F. (2016). Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants. *Clinical Oral Investigations*, 21(6), 2143–2154. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-2005-y>
- Singh, S., Sharma, A., Sood, P. B., Sood, A., & Zaidi, I. (2015). Saliva as a prediction tool for dental caries : an in vivo study. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 5(2), 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2015.05.001>
- Singh, S., Singh, S. P., Goyal, A., Utreja, A. K., & Jena, A. K. (2016). Effects of various remineralizing agents on the outcome of post-orthodontic white spot lesions (WSLs) : a clinical trial. *Progress in Orthodontics*. <https://doi.org/10.1186/s40510-016->

0138-9

- Subramaniam, P., & Telegeti, S. (2016). Effect of different concentrations of fluoride varnish on enamel surface microhardness : An in vitro randomized controlled study. *Journal of Indian Association of Public Health Dentistry*, 14(3), 344–347. <https://doi.org/10.4103/2319-5932.187172>
- Sugiura, M., Kitasako, Y., Sadr, A., Shimada, Y., & Sumi, Y. (2016). White spot lesion remineralization by sugar-free chewing gum containing bio-available calcium and fluoride : a double-blind randomized controlled trial. *Journal of Dentistry*, 54, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.09.003>
- Taranath, A., Pai, D., & Chakravarthy, K. (2014). The role of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate products in remineralization of incipient enamel lesions and its substantivity. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 4(1), 67–70. <https://doi.org/10.5455/jeim.261113.br.018>
- Tawakoli, P. N., Attin, T., & Mohn, D. (2016). Oral bio film and caries-in filtrant interactions on enamel. *Journal of Dentistry*, 48, 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.03.006>
- Urban, V. M., Machado, A. L., Vergani, C. E., Giampaolo, E. T., Pavarina, A. C., de Almeida, F. G., & Cass, Q. B. (2009). Effect of water-bath post-polymerization on the mechanical properties, degree of conversion, and leaching of residual compounds of hard chairside reline resins. *Dental Materials*, 25(5), 662–671. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2008.10.017>
- Vyavhare, S., Sharma, D., & Kulkarni, V. (2015). Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: an in vitro study. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 39(2), 149–160. <https://doi.org/10.17796/jcpd.39.2.yn2r54nw24l03741>
- West, N. X., Joiner, A., Care, U. O., East, Q. R., & Ch, W. (2014). Enamel mineral loss. *Journal of Dentistry*, 42(1), S2–S11. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(14\)50002-4](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(14)50002-4)
- Wierichs, R. J., Zelck, H., Doerfer, C. E., Appel, P., & Paris, S. (2017). Effects of dentifrices differing in fluoride compounds on artificial enamel caries lesions in vitro. *Odontology*, 105, 36–45. <https://doi.org/10.1007/s10266-016-0233-x>
- Young, D. A., Nový, B. B., Zeller, G. G., Hale, R., Hart, T. C., & Truelove, E. L. (2015). The american dental association caries classification system for clinical practice. *Journal of the American Dental Association*, 146(2), 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2014.11.018>
- Zhang, Y., Du, W., Zhou, X., & Yu, H. (2014). Review of research on the mechanical properties of the human tooth. *International Journal of Oral Science*, 6, 61–69. <https://doi.org/10.1038/ijos.2014.21>

ANEXO

Anexo 1 - Cópia da carta de aprovação da Comissão de Ética

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 526

Ex.ma Senhora
Laura Carretero Barrado

Monte de Caparica, 11 de janeiro de 2017.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado “**Comparação de diferentes pré-tratamentos de esmalte em lesões de carie não cavitadas**”, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita